

PALOMA KACHEL GUSSO

**CARACTERIZAÇÃO FLUORIMÉTRICA DA MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA E
SUA RELAÇÃO AUTÓCTONE/ALÓCTONE NA BAÍA DE PARANAGUÁ.**

**CURITIBA
2008**

PALOMA KACHEL GUSSO

**CARACTERIZAÇÃO FLUORIMÉTRICA DA MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA E
SUA RELAÇÃO AUTÓCTONE/ALÓCTONE NA BAÍA DE PARANAGUÁ.**

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ecologia e Conservação
da Universidade Federal do Paraná como
requisito à obtenção do título de Mestre em
Ecologia e Conservação.**

**Orientadora: Profa. Dra. Ana Teresa
Lombardi**

**CURITIBA
2008**

*Y sólo quiero cinco cosas,
cinco raíces preferidas.
Una es el amor sin fin...
Lo segundo es ver el otoño...
Lo tercero es el grave invierno...
En cuarto lugar el verano...
La quinta cosa son tus ojos...
No quiero dormir sin tus ojos,
no quiero ser sin que me mires:
yo cambio la primavera
para que tú me sigas mirando.”
(Pablo Neruda)*

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof. Dr. Ana Teresa Lombardi, por toda confiança depositada em mim, e por fazer possível mesmo à distância que esta pesquisa fosse concluída. Agradeço também por tantos anos de amizade e conselhos (que por sinal não foram poucos).

Ao CNPq pelo financiamento do projeto.

À Prof. Dr. Eunice Machado por ceder tão gentilmente seu laboratório para as análises de nutrientes.

Ao pessoal do Seu laboratório (Biogeoquímica Marinha- CEM), especialmente a Liciane pela imensa ajuda e claro por escutar todos os meus lamentos.

À minha colega de projeto e de análises no laboratório Carla, nossa foram vários e vários finais de semana de parceria, brigas com a coluna de cádmio... Nem acredito que conseguimos terminar.

Ao Prof. Dr. Armando Vieira do laboratório de ficologia da UFSCar por também emprestar seu laboratório para minhas análises de fluorescência.

As meninas de seu laboratório que me acolheram com carinho e bom humor neste período.

Aos professores da Pré-Banca e Banca Ciro Ribeiro e Eunice Machado pelas correções e comentários extremamente importantes para o fechamento deste estudo.

Ao Prof. Maurício Camargo pelas correções e pela paciência até que pudéssemos entender como fazer as análises estatísticas corretas deste trabalho.

À todos os professores da Pós Graduação em Ecologia e Conservação.

À nossa secretária Marli por sempre me ajudar diante das minhas dúvidas e problemas.

Aos meus amados colegas da turma de 2006 (Cris (colega Jurete), Rafael, Kelly, Ana, Denílson, André, Michel, Marcão, Cibebe, Adriana, Manu, Renata) por tudo que passamos juntos inclusive nos dias de confinamento na reserva do Salto Morato (BBB PPJeca), essa é uma experiência que eu nunca vou esquecer.

À Alessandra uma pessoa que eu conheci por acidente (ela teve que me hospedar em sua casa) e que hoje considero uma grande amiga. Obrigada pelas risadas, caminhadas, conselhos e conversas no frigorífico.

À Silvine pela nossa irmandade e a todos meus amigos de Pontal do Sul, Curitiba e Paris (minhas portuguesas!! Não sei o que eu teria feito sem vocês o pá!).

À nova velha família que agora faço parte os Brasil Choueri (Sol, Carol, Vó, Tia Soninha, Tia Sandra, Tia Magda...), tenho muita sorte por ter vocês em minha vida.

À minha irmã Fer e meu cunhado Marcelo que estão sempre presentes em minha vida, amo muito vocês dois.

Aos meus pais, os melhores que alguém pode ter, Dona Sandra e Seu Olivir não sei o que faria sem vocês, sempre me apoiando em tudo, mas tudo mesmo.

Ao Rodrigo, meu marido, amigo, professor. Foram tantas aventuras nestes anos de convivência. Poder estar com você é sempre maravilhoso mesmo quando temos que passar longos finais de semana em casa discutindo estatísticas. Te admiro tanto e sei que sem sua ajuda não conseguiria ter terminado esta tese.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE ABREVIACÕES.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. Introdução	1
2. Considerações teóricas	8
2.1 Teoria simples da absorção da luz por moléculas.....	8
2.2 O fenômeno da fluorescência molecular.....	10
2.3 Instrumentação para medição da fluorescência.....	12
2.4 Medidas de Fluorescência molecular nas substâncias húmicas.....	13
3. Objetivos	15
4. Material e Métodos	17
4.1 Área de estudo	18
4.1.1 Caracterização geral.....	18
4.1.2 Clima.....	19
4.1.3 Características hidrológicas.....	19
4.1.4 Bacia Hidrográfica do Rio Nhundiaquara.....	20
4.1.5 Zona de Máxima Turbidez.....	20
4.2 Amostragem.....	21
4.3 Análise das amostras.....	22
4.3.1 Parâmetros físico-químicos.....	22
4.3.2 Espectroscopia de fluorescência.....	23
4.4 Análises estatísticas.....	25
5. Resultados e Discussão	27
5.1 Abordagem geral.....	28
5.2 Emissão.....	28
5.2.1 Assinaturas da MOD do Estuário de Paranaguá.....	29
5.2.1.1 Primeira classe de fluoróforos ($\lambda_{ex}=350nm$).....	29
5.2.1.2 Segunda classe de fluoróforos ($\lambda_{ex}=450nm$).....	30
5.2.2 Alterações na MOD do Estuário de Paranaguá.....	31
5.2.3 Análise de componente principais (PCA).....	34
5.2.3.1 Primeira classe de fluoróforos (λ_{ex} 350nm).....	34

5.2.3.1.1 Fator 1 (F1).....	36
5.2.3.1.1.1 Correlação negativa entre comprimento de onda e salinidade.....	37
5.2.3.1.1.1 Correlação negativa entre comprimento de onda e clorofila com os nutrientes.....	40
5.2.3.1.2 Fator 2 (F2).....	41
5.2.3.2 Segunda classe de fluoróforos (λ_{ex} 450nm).....	42
5.2.3.2.1 Fator 1 (F1).....	44
5.2.3.2.2 Fator 2 (F2).....	46
5.2.3.3 Análise de similaridade (Cluster) e MDS para os comprimentos de onda de emissão.....	46
5.2.3.3.1 Primeira classe de fluoróforos (λ_{em} 350nm).....	46
5.2.3.3.2 Segunda classe de fluoróforos (450 nm).....	49
5.3 Excitação convencional.....	51
5.4 Excitação Sincronizada.....	51
5.4.1 Materiais proteicos recém formados (λ_{em} = 307 \pm 3nm).....	53
5.4.2 Material recém formado de origem biológica (λ_{em} = 500 \pm 3nm).....	55
5.4.3 Proteínas: (λ_{em} = 310 a 350 nm).....	56
5.4.4 Compostos de 3 ou 4 anéis aromáticos (λ_{em} =329 \pm 3 nm e 373 \pm 3nm).....	58
5.4.5 Naftaleno e seus conjugados (λ_{em} =348 \pm 3nm).....	58
5.4.6 Ácido fúlvico terrestre (λ_{em} =360 \pm 3nm).....	60
5.4.7 Compostos de 5 anéis aromáticos (λ_{em} = 381 \pm 3 nm e 418 \pm 3nm).....	61
5.4.8 Material associado à produção fitoplanctônica (λ_{em} = 380 a 420 nm).....	61
5.4.9 Ácidos húmicos e similares (λ_{em} = 420 a 480 nm).....	63
5.4.10 Compostos com 7 anéis aromáticos (λ_{em} = 440 \pm 3nm e 478 nm \pm 3nm)....	64
5.4.11 Ácido fúlvico (solo) (λ_{em} = 509 \pm 3nm).....	64
5.4.12 Efluente doméstico (λ_{em} = 512 a 531 nm).....	65
5.4.13 Ficoeritrina (λ_{em} = 584 \pm 3nm).....	66
5.4.14 Fluoróforos não classificados.....	66
6.Conclusões.....	68
7.Considerações Finais.....	71
8. Referências Bibliográficas.....	74
9. Anexos.....	87

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Parte do espectro magnético com destaque para os comprimentos de onda da luz visível.....	10
FIGURA 2 - Representação do estado fundamental e dos estados excitados singlete e tripleto.....	11
FIGURA 3 - Esquema de um sistema de fluorescência semelhante ao utilizado neste estudo.....	12
FIGURA 4 - Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP).....	18
FIGURA 5 - Mapa do eixo L do complexo estuarino da Baía de Paranaguá com destaque para os pontos de amostragem.....	21
FIGURA 6 - Assinatura da MOD característica da primeira classe de fluoróforos (espectros de emissão fixados em λ_{ex} 350 nm). MOD autóctone refere-se à amostra de água do estuário, enquanto MOD alóctone à amostra de água do Rio Nhundiaquara.....	29
FIGURA 7 - Assinatura da MOD característica da segunda classe de fluoróforos (espectros de emissão fixados em λ_{ex} 450 nm). MOD autóctone refere-se à amostra de água do estuário, enquanto MOD alóctone à amostra de água do Rio Nhundiaquara	31
FIGURA 8 - Variação do comprimento de onda médio obtidos a partir dos espectros de emissão em relação às amostras. a) Representa primeira classe de fluoróforos (350nm) e b) representa segunda classe de fluoróforos (450nm). As barras delimitam o 90º (acima) e 10º percentil (abaixo); as caixas delimitam o 75º (acima) e 25º percentil (abaixo). Os pontos negros representam dados <i>outliers</i>	32
FIGURA 9 - Autovetores e <i>Factor Scores</i> estimados através do rearranjo de 12 variáveis da matriz original dos dados representados em um sistema gráfico bidimensional. A variável comprimento de onda corresponde aos valores de emissão da primeira classe de fluoróforos (350nm). Escala do Fator: 1,68. QV = Quadratura Verão; QI = Quadratura Inverno; SV = Sizígia Verão; SI = Sizígia Inverno.....	36
FIGURA 10 - Autovetores e <i>Factor Scores</i> estimados através do rearranjo de 12 variáveis da matriz original dos dados representados em um sistema gráfico bidimensional. A variável comprimento de onda corresponde aos valores de emissão	

da primeira classe de fluoróforos (450nm). Escala do Fator: 1,80. QV = Quadratura Verão; QI = Quadratura Inverno; SV = Sizígia Verão; SI = Sizígia Inverno.....	44
FIGURA 11 - Escalonamento multidimensional de dados de comprimento de onda de emissão de 350nm.....	47
FIGURA 12 - Análise hierárquica de agrupamento dos valores de emissão da primeira classe de fluoróforos (350nm) de todas as amostras. A letra 's' corresponde às amostras de superfície e 'f' corresponde às amostras de fundo. SV= sizígia verão, QV= quadratura verão, SI= sizígia inverno, QI= quadratura inverno.....	48
FIGURA 13 - Escalonamento multidimensional de dados de comprimento de onda de emissão de 450nm.....	49
FIGURA 14 - Análise hierárquica de agrupamento dos valores de emissão da primeira classe de fluoróforos (450nm) de todas as amostras. A letra 's' corresponde às amostras de superfície e 'f' corresponde às amostras de fundo. SV= sizígia verão, QV= quadratura verão, SI= sizígia inverno, QI= quadratura inverno.....	50
FIGURA 15 - Exemplo de um espectro de excitação sincronizada obtido a partir da excitação da MOD dulcícola ($\Delta = 18$ nm).....	51
FIGURA 16 - Exemplo de um espectro de excitação sincronizada obtido a partir da excitação da MOD estuarina ($\Delta = 18$ nm).....	52

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Factor loadings estimados através do rearranjo de 12 variáveis da matriz original dos dados. Os valores relacionados ao comprimento de onda se referem à emissão da primeira classe de fluoróforos (350nm). Apenas valores maiores ou iguais a 0,40 são apresentados. Os fatores estão numerados consecutivamente em ordem decrescente de explicação da variância.....	35
TABELA 2 - Factor scores extraídos para cada amostra em relação ao total de amostras sobre as 12 variáveis da matriz original dos dados. A variável λ (nm) corresponde aos valores de emissão da 1ª classe de fluoróforos ($\lambda_{Ex} = 350$ nm). Valores positivos apresentados em negrito.....	88
TABELA 3 - Factor loadings estimados através do rearranjo de 12 variáveis da matriz original dos dados. Os valores de comprimento de onda correspondem à emissão da segunda classe de fluoróforos (450nm). Apenas valores maiores ou iguais a 0,40 são apresentados. Os fatores estão numerados consecutivamente em ordem decrescente de explicação da variância.....	43
TABELA 4 - Factor scores extraídos para cada amostra em relação ao total de amostras sobre as 12 variáveis da matriz original dos dados. A variável λ (nm) corresponde aos valores de emissão da 2ª classe de fluoróforos ($\lambda_{Ex} 450$ nm). Valores positivos apresentados em negrito.....	89
TABELA 5 - Principais componentes fluorescentes encontrados em águas naturais.....	53
TABELA 6 - Composição da FMOD em cada amostra (a marca X indica a presença do fluoróforo específico).....	90
TABELA 7 - Origem e ocorrência dos fluoróforos na Baía de Paranaguá	92

LISTA DE ABREVIATÖES

CEP – Complexo Estuarino de Paranaguá

ZMT – Zona de Máxima Turbidez

SH – Substância Húmica

MO – Matéria Orgânica

MOP – Matéria Orgânica Particulada

MOD – Matéria Orgânica Dissolvida

COD – Carbono Orgânico Dissolvido

COP – Carbono Orgânico Dissolvido

FMOD – Matéria Orgânica Dissolvida Fluorescente

EFS - Espectrocopia de Fluorescência Sincronizada

λ_{ex} – Comprimento de Onda de Excitação

λ_{em} - Comprimento de Onda de Emissão

MS – Maré de Sizígia

MQ – Maré de Quadratura

Resumo

Os estuários localizam-se na interface continente-oceano e por isso apresentam características de ambos os ambientes. O conhecimento da origem da matéria orgânica encontrada nos estuários, bem como a quantificação da contribuição das fontes marinha e/ou continental são essenciais para o entendimento do papel da circulação estuarina como elemento de transferência de material na zona costeira. O objetivo deste estudo foi investigar a composição e o comportamento da Matéria Orgânica Dissolvida (MOD) no Sistema Estuarino de Paranaguá e apontar a contribuição da MOD alóctone (Rio Nhundiaquara) nas águas estuarinas. Para tanto foi usada a técnica de espectroscopia de fluorescência empregando-se os espectros de emissão, excitação simples e excitação sincronizada. Para a emissão de fluorescência foram avaliadas duas classes de fluoróforos, uma excitável entre 310 - 390 nm e outra entre 410 - 470 nm. Inicialmente, com os comprimentos de onda de emissão, foram determinadas as assinaturas características de cada ambiente (estuarino e dulcícola), e constatou-se que apenas a primeira classe de fluoróforos possui uma assinatura característica para cada ambiente. Observou-se emissão em comprimentos de onda mais curtos para as amostras de água salgada em relação às do rio Nhundiaquara. Com estas assinaturas foi possível traçar o comportamento da MOD no estuário bem como as alterações sofridas pela MOD alóctone quando esta atinge a zona de mistura e, assim, inferir que a MOD alóctone que entra no estuário não está somente sujeita as alterações físico-químicas impostas pelo novo meio (água salgada), mas também o fotobranqueamento e a degradação bacteriana são determinantes na transformação destes materiais. Isto tem por consequência a redução no comprimento de onda de emissão. Dados físico-químicos da água do estuário também foram coletados e com o auxílio de uma análise de componentes principais (PCA) foi possível estabelecer quais forçantes estariam correlacionadas às alterações de comprimento de onda de emissão. Para a primeira classe de fluoróforos as análises apontaram uma relação positiva entre os comprimentos de onda emitidos e as concentrações de clorofila *a*. Também foi observada uma correlação negativa entre estas variáveis, a salinidade e as concentrações de POT, NOT, NO₂, NO₃ e NH₄. Para a segunda classe observou-se uma correlação positiva entre os valores de comprimentos de onda de emissão, salinidade, POT, NOT, NO₂, NO₃ e NH₄. A análise também aponta uma correlação negativa entre estas variáveis e os resultados de clorofila *a*. Para as duas classes foi possível determinar que as correlações são mais pronunciadas durante a estação seca, provavelmente porque durante a estação chuvosa existe um aumento nas fontes contribuidoras de MOD, o que dificultaria a verificação destas correlações. A metodologia de excitação simples foi ineficaz para o rastreamento da MOD, o que nos leva a sugerir que não seja aplicada com este objetivo. Já os espectros obtidos com a técnica de excitação sincronizada possibilitaram a determinação das fontes, sumidouros e do comportamento da matéria orgânica dissolvida fluorescente (FMOD). A partir destas determinações foi possível afirmar que o aporte de materiais alóctones é determinante na composição da MOD do Complexo Estuarino de Paranaguá. Foi verificada também uma alta produtividade de compostos autóctones recentes, o que pode dar-se tanto via bactérias como via fitoplâncton. No entanto foi apontado também que a MOD tanto alóctone quanto autóctone sofrem impacto antrópico, uma vez que foi detectada a presença de naftaleno, grande concentração de compostos proteicos, além da contaminação por efluentes domésticos no estuário.

Palavras-chave: Fluorescência; Substâncias húmicas; MOD marinha; Ácido fúlvico; Espectroscopia de fluorescência sincronizada

Abstract

Estuaries are located at the ocean-continent interface and consequently they present characteristics of both environments. Knowing the source of the estuarine organic matter, as well as quantifying the contribution of each (marine and/or continental) is essential to understand the role of estuarine circulation as a transference element of coastal zone material. The aim of this study was to investigate the Dissolved Organic Matter's (DOM) composition and behaviour in the Paranaguá Estuarine System and demonstrate the contribution of allochthonous (Nhundiaquara river) DOM to the estuarine waters. To do so, fluorescence spectroscopy technique with emission spectrum, simple and synchronised excitation was employed. Two classes of fluorophores were assessed with the fluorescence emission: one was excitable within the range of 310 – 390nm and the other 410 – 470nm. Initially, the characteristic signature of each environment (fresh and estuarine waters) was determined by measuring their emission wave-length; it was observed that only the first class of fluorophores has a typical signature of each environment. Shorter wave-lengths were detected in salt-water samples in relation to Nhundiaquara river samples. These signatures made it possible to trace DOM's behaviour in the estuary as well as the alterations of the allochthonous DOM's when it reaches the mixture zone. Based on that, it was suggested that allochthonous DOM which reaches the estuary is not only subjected to physical-chemical changes between continental and marine environments, but the photobleaching process and bacterial degradation are also determinant in the transformation of these material. The consequence of such processes is the reduction on the emission wave-length. Additionally, by means of a Principal Component Analysis (PCA), physical-chemical data of estuarine water were used to verify which environmental variables were correlated to alterations on emission wave-length. The results showed, for the first class of fluorophores, a positive correlation between the wave-lengths emissions and the concentrations of a-chlorophyll. Still in this group of fluorophores, a negative correlation between this group of variables (wave-lengths emissions and a-chlorophyll) and salinity, concentrations of TOP, organic-N, NO₂, NO₃, and NH₄. The PCA results for the second class of fluorophores showed a positive correlation between wave length emissions, salinity, TOP, organic-N, NO₂, NO₃, and NH₄. Negative correlations were found between this group of variables and concentrations of a-chlorophyll. For the two classes of fluorophores, the correlations have more weight during dry season, probably because during the rainy season occurs an increasing on the DOM's sources, which would make it difficult to verify such correlations. In this study, it was also verified that the methodology of simple excitation was unable to track the DOM in the estuary. In the other hand, the spectra obtained with the synchronised excitation technique made possible the determination of the sources, sinks, and the behaviour of fluorescent dissolved organic matter (FDOM). From these determinations, it was possible to affirm that the input of allochthonous materials is determinant in the composition of the DOM in the Paranaguá Estuarine System. In addition, a high productivity of fresh autochthonous material was observed, which it may be a result of bacterial of phytoplankton production. It was also suggested that both allochthonous and autochthonous DOM are influenced by anthropogenic impacts, since the presence of naphthalene, high concentration of protein-based substances, as well as domestic effluents contamination was detected in the estuarine waters.

Key words: Fluorescence; Humic substances; Marine DOM; Fulvic acid; Synchronous fluorescence spectroscopy

1. Introdução

Embora os rios sejam comumente considerados como as “artérias do continente” (Degens et al., 1991), ou seja, transportadores passivos de materiais orgânicos e minerais provenientes do continente em direção aos oceanos, eles são também, ao lado dos estuários associados, os elos que unem sistemas hidrológicos e biogeoquímicos oceânicos e continentais (Mc Callister *et al*, 2006).

A matéria orgânica natural encontrada em sistemas aquáticos é tipicamente composta por organismos vivos, seus produtos de excreção e restos após a morte, podendo-se caracterizá-la como particulada (MOP) ou dissolvida (MOD). Esta diferenciação é arbitrária e baseada no diâmetro do poro do filtro utilizado no processo de amostragem e/ou filtração. Utilizando-se filtros de 0.2 ou de 0.5 μm de diâmetro de poro, o material retido no filtro é considerado como *matéria orgânica particulada (MOP)* ou *carbono orgânico particulado (COP)*, e o restante, aquilo que passou através dele, é considerado como *matéria orgânica dissolvida (MOD)* ou *carbono orgânico dissolvido (COD)* (Lombardi, 1995).

A matéria orgânica dissolvida (MOD) é onipresente nos sistemas aquáticos e possui uma vasta variedade de massas moleculares e estruturas químicas, o que lhes proporcionam um papel multifuncional nos ambientes. As alterações em sua composição podem afetar os processos químicos, físicos e biológicos dos ecossistemas, bem como mudanças no ciclo do carbono orgânico (Zepp, 1997).

As substâncias húmicas (SH) constituem uma fração significativa da MOD. Esta denominação é aplicada a uma mistura heterogênea de uma variedade de compostos orgânicos, consistindo em grupos funcionais aromáticos, alifáticos, fenólicos e quinólicos, que possuem diferentes tamanhos e massas moleculares, e conseqüentemente, distintas propriedades. O tamanho, composição química, estrutura e grupos funcionais podem variar grandemente dependendo da origem e idade do material (Chin *et al.*, 1998). No entanto, pouco é entendido sobre os processos que de fato controlam sua distribuição.

Estima-se que anualmente cerca de 10^{14} g de MOD terrestre sejam carreadas em direção aos oceanos (Raymond & Bauer, 2001). Segundo Williams & Druffel (1987), os rios carregam MOD suficiente para suportar a ciclagem de COD nos oceanos. A MOD alóctone geralmente possui uma composição química que indica que sua principal origem é material derivado de solos (Hedges *et al.*, 1994). Ainda, de acordo com Coble *et al.* (1998), as substâncias húmicas terrestres constituem

uma das maiores fontes de matéria orgânica dissolvida fluorescente (FMOD) – um dos principais componentes da MOD – para águas estuarinas. Este aporte, associado às fontes de MOD autóctones, *i.e* o fitoplâncton, a MOD derivada de manguezais e regiões pantanosas, são responsáveis pela formação da FMOD estuarina e costeira (Moran *et al.*, 1991; Mueller & Ayukai, 1998; Del Castillo *et al.*, 2000; Dittmar *et al.*, 2001; Hernes *et al.*, 2001).

Uma vez que os mecanismos de formação da MOD afetam sua composição química e reatividade, é esperado que a MOD alóctone possua características distintas da autóctone. Assim sendo, a MOD fluvial (alóctone), quando alcança águas estuarinas, está sujeita a uma série de alterações em sua composição, as quais oferecem ao sistema estuarino múltiplas formas potenciais de FMOD. A variedade de FMOD em sistemas estuarinos é ainda complementada pela produção autóctone destes compostos.

A matéria orgânica terrestre que entra no estuário pode ser modificada de diversas formas: (1) quimicamente a partir da fotodegradação (Mopper *et al.*, 1991; Vodacek *et al.*, 1997; Moran *et al.*, 1999; Ziegler & Benner, 2000), (2) biologicamente através da produção autóctone (Raymond & Bauer, 2001), degradação heterotrófica (Amon & Benner, 1996a, 1996b; Moran *et al.*, 1999; Tranvik, 1993; Mc Callister *et al.*, 2004), e respiração (Moran *et al.*, 1999) e, (3) fisicamente através da homogeneização de fontes espacialmente distintas (Cloern *et al.*, 2002), floculação, processos de troca, mobilização e sedimentação (Prahl *et al.*, 1994). A alteração pode variar dependendo da proximidade da origem desta MOD e da exposição a processos degradativos.

Uma das principais feições sedimentares dentro de um estuário é a zona de máxima turbidez (ZMT) que, quando comparada a zonas localizadas à sua jusante e montante, caracteriza-se pela alta concentração de sedimentos em suspensão. Na ZMT ocorrem reações químicas e físicas significativas para os processos bio-geoquímicos; por exemplo, nesta região, o pH pode variar entre 1 e 8 (Dyer, 1989). Desta forma, os materiais orgânicos dissolvidos que passam das águas continentais para o estuário encontram condições diferentes daquelas das águas doces, além das condições particulares da ZMT, podendo sofrer uma série de transformações. Sabe-se que uma parcela da MOD poderá precipitar-se e formar agregados orgânicos, que em seguida sofrerão colonização microbiana, reciclando nutrientes e

outros materiais. Outra parcela seguirá como material orgânico dissolvido (MOD), porém com características distintas das originais. Observa-se uma alteração no máximo de emissão de fluorescência, o que significa alteração nas características estruturais da MOD que permanece no ambiente estuarino (Bricaud e Sathyendranath, 1981; De Souza-Sierra, 1992; Lombardi, 1995; Lombardi & Jardim, 1999; Stedmon *et al*, 2003; Jaffe *et al*, 2004).

A eficiência dos estuários em reter e transformar MOD terrestre é determinante para o entendimento do ciclo global do carbono (Stallard, 1998). Existem vários estudos que indicam que grande parte da MOD terrestre é formada por compostos húmicos naturais e estão sujeitos a uma mistura conservativa através dos estuários (Ittekkot, 1988); a alta concentração de polímeros condensados e cromofóricos naturais da MOD alóctone em sistemas estuarinos e fluviais, além dos inúmeros estudos da baixa labilidade da MOD, têm perpetuado esta visão (Moran *et al.*, 1999; Raymond & Bauer, 2000). Porém a falta de assinatura dos compostos terrígenos no oceano aberto sugere que estes materiais não persistem nos oceanos (Opsah & Benner, 1997). Esta aparente duplicidade gera uma necessidade de traçar o perfil da MOD terrestre a partir do momento que esta entra no estuário e determinar que transformações estão ocorrendo e como se comportam estes compostos.

A fração opticamente ativa da MOD é chamada matéria orgânica dissolvida fluorimétrica (FMOD) e pode ser usada como traçador para dinâmicas e características da MOD total. A FMOD usualmente consiste em uma mistura de compostos orgânicos complexos (substâncias húmicas e fúlvicas, ácidos orgânicos hidrofílicos, ácido carboxil, aminoácidos e carboidratos) e suas características fluorescentes refletem informações sobre sua estrutura, grupos funcionais, conformação, homogeneidade e massa molecular (Candler *et al.*, 1998; Lanxiu *et al.*, 2006). Os dois maiores componentes da MOD que fluorescem são os materiais húmicos e as frações proteicas (Mopper & Schultz, 1993; Coble, 1996).

Medidas de fluorescência vêm sendo utilizadas com o propósito de determinar as diferentes origens de MOD nos sistemas de água doce, estuarinos e costeiros (Cabaniss & Shuman, 1987; Mopper & Schultz, 1993, De Souza-Sierra *et al.*, 1994, 1997; Coble, 1996; Nieke *et al.*, 1997; Battin, 1998; Lombardi & Jardim, 1999; Mounier *et al.*, 1999; Del Castillo *et al.*, 2000, McKnight *et al.*, 2001; Clark *et al.*,

2002). A espectroscopia de fluorescência molecular pode ser usada para investigações sobre a natureza e origem da MOD uma vez que esta possui compostos orgânicos de estrutura aromática, cromatóforos conjugados e cadeias alifáticas insaturadas, variando sua energia em amplitudes de transições $\pi \rightarrow \pi^*$.

Uma das vantagens na utilização da espectroscopia de fluorescência é sua alta sensibilidade, possibilitando o uso de pequenos volumes amostrais e uso da amostra *in natura*, sem pré-concentração prévia. Grande parte dos métodos tradicionais de caracterização da MOD demandam grandes volumes amostrais e também longos e complexos processos de manuseio da amostra, aumenta a possibilidade de contaminação e/ou alteração química do material (Coble, 1996). A necessidade de amostras de grande volume também impede a coleta de um maior número de amostras, diminuindo-se a possibilidade de detecção de variações espaço-temporais. Além disso, este processo demanda um alto custo econômico. Desta forma, uma alternativa rápida, com pequeno esforço amostral e com maiores benefícios em relação aos custos, é a determinação das propriedades ópticas da MOD.

Avanços recentes em espectroscopia de fluorescência resultam em rápida detecção (aproximadamente 1 minuto nos dias atuais, comparado aos 20 minutos nos anos 90 e a cerca de 1 dia nos anos 80), possibilitando a análise de um número maior de amostras, além de permitir que estas sejam verificadas considerando-se uma larga amplitude de excitação (Coble, 1996).

As bandas de emissão de fluorescência diferenciam-se mediante a variação no comprimento de onda de excitação empregado. A variação de respostas dentro de uma certa banda de emissão indica a presença de várias classes de moléculas, que absorvem e emitem luz em um comprimento de onda específico (fluoróforos). O comprimento de onda emitido também indica a complexidade das moléculas e permitem distinguir as diferentes origens da MOD. A MOD terrestre apresenta predominância de compostos aromáticos produzidos por vegetais superiores, tais como ligninas e taninos, enquanto a marinha, é constituída por compostos alifáticos produzidos por vegetais inferiores, tais como as algas. A variedade de composições da MOD resulta em diferenças nos espectros de fluorescência que podem ser usadas como traçadores, com o objetivo de acompanhar o caminho percorrido pela MOD dentro de estuário. Além disso, através da análise de fluorescência, é possível

caracterizar a variabilidade temporal e espacial, concentração e origem da MOD nos diversos ambientes onde são encontradas (Parlanti *et al.*, 2000; McKnight *et al.*, 2001).

A caracterização da influência da MOD terrestre na MOD estuarina é importante para entender seu papel no funcionamento dos ecossistemas (Benner, 2002). Sua concentração e composição podem influenciar diferentes aspectos dos ecossistemas aquáticos, de forma direta ou indireta: (i) biológicos (ecologia do plâncton e microbiana) (Williamson *et al.*, 2001); (ii) químicos (mobilização de poluentes orgânicos e inorgânicos) (Xiaoying, 2001), especiação e transporte de metais pesados (Berault *et al.*, 1996); toxicidade de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) (Diamond *et al.*, 2000); (iii) físicos (propriedades ópticas) (Bricaud *et al.*, 1981), além de afetar o tratamento de água (Watts *et al.*, 2001) e reservas de carbono (Freeman *et al.*, 2001).

Atualmente a situação da MOD terrestre nos oceanos está sendo significativamente alterada, segundo um estudo recente (Freeman *et al.*, 2001), no qual foi observado um acréscimo de 65% nas concentrações de COD nos ambientes de água doce nos últimos 12 anos. Este aumento é atribuído ao mau uso da terra através de processos de estímulo e exportação de COD de áreas agrícolas (Worrell *et al.*, 2003). Somando-se a isso, o aumento da temperatura global tende a amplificar a taxa de movimentação da MOD alóctone, o que pode resultar em alterações-chave na realocação e no estoque de carbono terrestre nos oceanos (Baker & Spencer, 2004). Desta forma o entendimento da MOD nos estuários, bem como seu acompanhamento em longo prazo, tornam-se vitais para quantificar os efeitos do aquecimento global sobre os estuários e, obviamente, sobre os oceanos.

Deve-se ainda salientar que a maioria dos sistemas estuarinos mundiais está sendo submetida a um acréscimo de pressão por forças antropogênicas (Callahan *et al.*, 2004). Este fato é observado também na região do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (CEP), onde coexistem atividades urbanas, portuárias (fertilizantes, estocagem de produtos químicos e granéis), dragagens, industriais, entre outras. Estas atividades, além de incrementar a concentração de carbono orgânico no estuário, têm acrescentado aos sedimentos grandes quantidades de metais pesados nos últimos anos (Sá, 2003). A MOD é fundamental na interação e transporte de muitos contaminantes orgânicos ou inorgânicos e também pela ciclagem de

nutrientes pelo ecossistema (LeBoeuf & Weber, 2000a, b). Sua caracterização detalhada química e física é particularmente importante para estudar estas reações e processos. Mais especificamente, um melhor entendimento das propriedades estruturais e funcionais auxilia na compreensão dos mecanismos responsáveis pela complexação, redução, biodisponibilidade e mobilização ou imobilização de metais e compostos orgânicos. Assim sendo, o conhecimento da MOD em um sistema permite prever o comportamento da MOD frente a um ambiente contaminado (Chen *et al.*, 2003).

Atualmente, poucos estudos estão sendo conduzidos com objetivo de determinar a concentração e a ciclagem do carbono orgânico no estuário de Paranaguá e nenhum estudo foi publicado caracterizando a distribuição e assinatura da FDOM nesta região. Desta maneira, a caracterização da influência da MOD alóctone no Complexo Estuarino de Paranaguá vem contribuir para o aprofundamento dos conhecimentos no referido estuário. Neste trabalho a MOD no Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) (25°16' – 25°34' S; 48°17' – 48°42' O) foi caracterizada antes de sua entrada no estuário e durante sua passagem pela Zona de Máxima Turbidez (ZMT). Desta maneira, foi possível acompanhar o processo de transformação da MOD no CEP através da avaliação da fluorescência da MOD na zona de máxima turbidez (ZMT), assim como à sua montante, permitindo inferir-se sobre a contribuição de MOD alóctone para o ambiente estuarino.

2. Considerações teóricas

2.1 Teoria simples da absorção da luz por moléculas

A luz, em seu aspecto ondulatório, consiste de campos elétricos e magnéticos que são mutuamente perpendiculares e oscilam senoidalmente à medida que se propagam pelo espaço.

Outro comportamento exibido pela luz é como um feixe de partículas, ou seja, fótons. Quando uma onda eletromagnética encontra uma molécula, ela pode ser espalhada (sua direção de propagação muda) ou pode ser absorvida (sua energia é transferida à molécula). A ocorrência de cada processo depende de propriedades intrínsecas de cada molécula.

Uma molécula fica excitada ou em um estado excitado quando absorve energia eletromagnética. Uma molécula ou parte de uma molécula que pode ser excitada pela absorção é chamada de cromatóforo.

Esta energia de excitação é usualmente convertida em calor (energia cinética) pela colisão de moléculas excitadas com outras moléculas. Com algumas moléculas esta energia é reemitida como fluorescência.

Uma molécula excitada possuirá níveis transicionais de energia, o nível eletrônico mais inferior é chamado de estado fundamental e os superiores são estados excitados.

A mudança entre níveis de energia é chamada de transição. Uma transição entre níveis eletrônicos de energia representa a energia requerida para mover um elétron de uma órbita a outra (Stedmon *et al.*, 2003).

Para a maioria das moléculas, os comprimentos de onda correspondentes as transições entre o estado fundamental e qualquer nível vibracional do primeiro estado excitado estarão no intervalo da luz ultravioleta e da luz visível (figura.1). Transições de baixa energia, na faixa do infravermelho, também são possíveis entre níveis vibracionais no interior de um mesmo nível eletrônico.

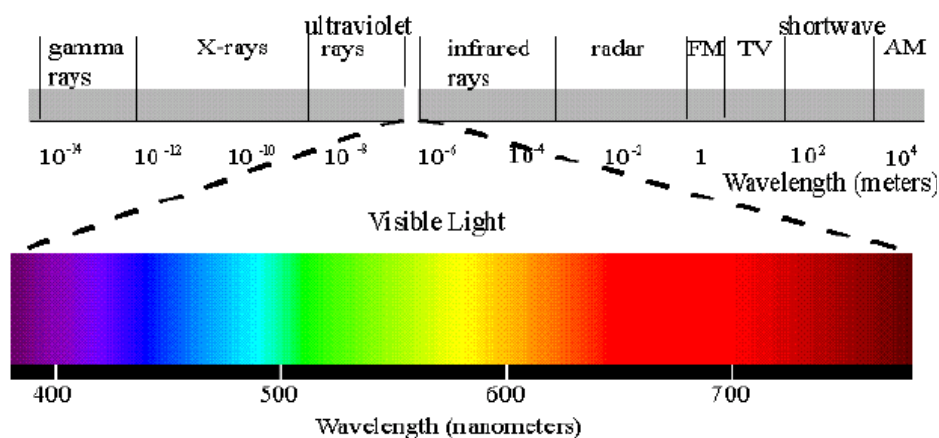


Figura 1: Parte do espectro magnético com destaque para os comprimentos de onda da luz visível.

2.2 O fenômeno da Fluorescência molecular

O fenômeno da luminescência molecular consiste na emissão de radiação eletromagnética resultante de moléculas que foram excitadas. Uma molécula excitada apresenta a elevação de elétrons de valência de um orbital menos energético para um orbital de maior energia.

A luminescência molecular divide-se em fluorescência e fosforescência, sua classificação depende da natureza do estado excitado envolvido no processo. Caso o estado excitado envolvido seja singlete, onde o spin do elétron no orbital excitado mantém sua orientação original, tem-se a fluorescência, caso tripleto, onde a orientação do elétron que foi promovido ao estado excitado é invertida, fosforescência (Figura 2).

A fluorescência possui a retenção da orientação original, e seu retorno do estado excitado para o estado fundamental é rápido e “permitido” (diferente da fosforescência), essas características tornam o procedimento experimental fluorimétrico bastante simples.



Figura 2: Representação do estado fundamental e dos estados excitados singlete e tripleto.

A fluorescência é a base da fluorimetria, e é um conjunto de técnicas analíticas baseadas na detecção dos fótons emitidos por moléculas excitadas de caráter singlete quando estas retornam para o estado fundamental.

O tipo e o grupo de substituinte no anel aromático das moléculas afetam a intensidade e o comprimento de onda de emissão de fluorescência. Assim, o comportamento fluorimétrico é resultante de um processo acumulativo que depende dos vários componentes estruturais presentes na molécula, e o espectro observado consiste na somatória dos espectros individuais dos vários fluoróforos presentes na molécula (Lombardi, 1999). Desta forma o formato e a posição de uma banda de emissão de um espectro de fluorescência são dependentes da estrutura molecular da substância.

Embora seja difícil prever teoricamente se uma molécula exibirá luminescência sem o prévio conhecimento da diferença de energia relativa entre o estado excitado singlete e o fundamental, pode-se, de um modo geral, se observar alguns requisitos.

Primeiramente, moléculas relativamente rígidas e ricas em elétrons π (como no caso das moléculas aromáticas), contendo ou não heteroátomos em sua cadeia principal, são potencialmente fluorescentes.

Uma estrutura molecular plana também favorece a fluorescência, pois aumenta a interação e conjugação entre o sistema de elétrons π . A fluorescência advém de transições $\pi^* \rightarrow \pi$ (entre orbital pi anti-ligante e orbital pi ligante) e em menor escala $\pi^* \rightarrow n$ (entre orbital pi anti-ligante e orbital não-ligante).

A presença de grupos substituintes na molécula também é fator importante, pois afeta a intensidade e o tipo de luminescência, sendo que a presença de grupos hidroxí (-OH), metoxi (-OR), amino (-NR₂), cianeto (-CN) e sulfônico (-SO₃H) têm tendência em amplificar a fluorescência.

Por outro lado, grupos cetônicos (-C=O) carboxílicos (-COOH) e halogênios (-X) favorecem o cruzamento intersistemas, trocando a multiplicidade da população excitada (S1 T_n) e por conseqüência diminuindo a fluorescência.

2.3 Instrumentação para Medição da Fluorescência

Um feixe de luz de alta intensidade passa através de um monocromador para a seleção de um comprimento de onda de excitação (um comprimento de onda eficientemente absorvido pelo fluoróforo). O feixe de luz de excitação passa através de uma célula contendo a amostra. A luz emitida (fluorescência) passa através de um monocromador para a análise do comprimento de onda e depois vai para um detector fotossensível (tubo fotomultiplicador) (Figura 3).

Atualmente programas de computador varrem automaticamente os comprimentos de onda detectados e apresentam espectros de intensidade de fluorescência (em unidades arbitrárias) versus λ .

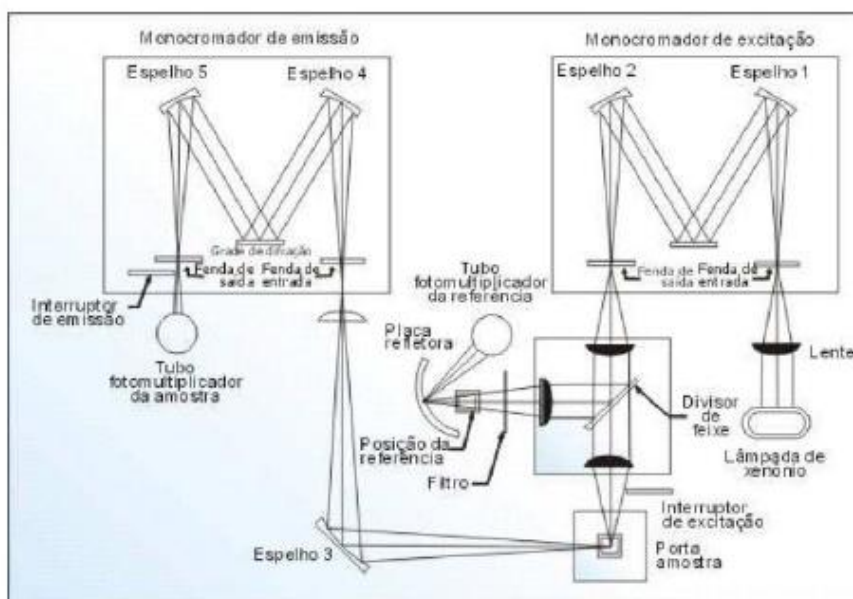


Figura 3: Esquema de um sistema de fluorescência semelhante ao utilizado neste estudo (www.chemkeys.com).

2.4 Medidas de Fluorescência molecular nas substâncias húmicas (SH)

As técnicas convencionais de fluorescência (excitação em comprimentos de onda fixos, para componentes individuais) são aplicáveis em diversos estudos que objetivam o estudo da MOD natural (De Souza-Sierra *et al.*, 1994; Coble, 1996; Lombardi & Jardim, 1999; Peuravuori *et al.*, 2002; Blough & Del Vecchio, 2002). Porém estas técnicas podem não fornecer dados refinados sobre os componentes estruturais dos compostos, uma vez que as substâncias húmicas possuem uma complexidade química e estrutural.

Em estudos que objetivam uma classificação mais detalhada da SH a técnica de espectroscopia de fluorescência sincronizada (EFS) é ideal (Lombardi & Jardim 1999).

A espectrometria de fluorescência sincronizada fornece um guia da estrutura química, complexidade, grau de humificação e peso molecular da FMOD (Peuravuori *et al.*, 2002; Kowalczyk *et al.*, 2003): Moléculas de baixo peso molecular fluorescem quando excitadas em baixo comprimento de onda e representam MOD autóctone, as moléculas de peso molecular médio representam componentes mais complexos como os ácidos fúlvicos que geralmente possuem origem alóctone (Retamal *et al.*, 2006).

Um espectro de emissão é obtido através do registro da intensidade de luz emitida em função do comprimento de onda, com a excitação realizada em comprimento de onda fixo. Já um espectro de excitação é obtido quando a amostra é excitada com uma variedade de comprimentos de onda e a intensidade de luz fluorescente emitida é registrada em comprimento de onda fixo.

A excitação sincronizada é uma técnica bidimensional fornece os dados de comprimento de onda de emissão (λ_{em}) e excitação(λ_{ex}) paralelamente durante as análises, uma vez que, os monocromadores de excitação e emissão são escaneados sincronizadamente e um intervalo de comprimentos de onda constante é mantido, ($\delta=\lambda_{em}-\lambda_{ex}$) (Lombardi & Jardim, 1999).

Um dos maiores problemas na detecção de componentes das SH naturais é sua complexidade, desta forma a escolha entre o intervalo de comprimentos de onda para a varredura é determinante.

Lloyd (1971), sugeriu que o intervalo entre os comprimentos de onda de emissão e excitação deveria estar entre 20 e 30 nm para compostos condensados aromáticos. Porém estudos posteriores provaram experimentalmente que a diferença constante de 18 nm otimiza a resolução do sinal sincronizado para as SH naturais de diferentes soluções (Senesi & Miano, 1991, Lombardi & Jardim, 1999, Pouravouri *et al.*, 2002).

3. Objetivos

- I. Avaliar a contribuição da matéria orgânica alóctone na Baía de Paranaguá;
- II. Caracterizar qualitativamente a matéria orgânica alóctone na Baía;
- III. Verificar as assinaturas características da MOD para cada ambiente (marinho e dulcícola)
- IV. Verificar as transformações sofridas pela matéria orgânica terrestre durante sua passagem pela zona de mistura;
- V. Determinar as influências das variáveis físico-químicas da água sobre a composição e origem da MOD.

4. Material e Métodos

4.1 Área de estudo

4.1.1 Caracterização geral

O Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) (figura 4) localiza-se no estado do Paraná, região sul do Brasil, e apresenta dois eixos: um de direção L – O, onde se situam as baías de Paranaguá e Antonina, e outro na direção NE – SO, onde situam-se as baías de Laranjeiras, Guaraqueçaba e Pinheiros. Possui uma área superficial de 601 km² com volume de 2×10^9 m³ (Knoppers *et al.*, 1987) e caracteriza-se como um estuário de planície costeira (Mantovanelli, 1999). Recebe cerca de 70% da drenagem da Bacia hidrográfica Atlântica, com área de 2188 km² e descarga de água doce de 178 m³ s⁻¹ no período chuvoso (verão) e de 47 m³ s⁻¹ no período seco (inverno) (Mantovanelli, 1999). Geograficamente é considerada uma baía e oceanograficamente um estuário.



Figura 4. Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP).

As baías de Paranaguá e de Antonina localizam-se no eixo leste – oeste do complexo estuarino, têm área de 258,4 km², volume de $1,4 \times 10^9$ m³, e extensão longitudinal de 50 km (Knoppers *et al.*, 1987). A circulação das águas nas duas baías é regida pelas correntes de marés com influência sazonal do aporte fluvial (Knoppers *et al.*, 1987). A onda de maré percorre a distância entre a Ilha da Galheta

e Antonina em 1,3 a 1,5 horas durante a quadratura e entre 1,0 a 1,1 horas durante a sizígia (Marone e Jamiyanaa, 1997). Os ventos apresentam um importante papel na geração de marés meteorológicas durante a passagem de frentes frias, quando podem causar uma elevação no nível da água dentro da Baía de Paranaguá de até 0,80 m (Camargo & Harari, 1994; Marone & Camargo, 1994). Os rios Cachoeira, Faisqueira, Nhundiaquara e o Guaraguaçu desaguam nessas Baías. A conexão do Complexo Estuarino da baía de Paranaguá com o Oceano Atlântico ocorre através de três canais principais, um canal menor e um canal artificial.

4.1.2 Clima

O clima do CEP é subtropical úmido mesotérmico, com duas estações bem definidas: chuvosa no verão e seca no inverno (Bigarella *et al.*, 1978). O período chuvoso tem início no final da primavera e permanece durante a maior parte do verão, sendo que em fevereiro ocorre maior precipitação. O período seco tem início ao final do outono e permanece até o final do inverno (junho, julho e agosto).

4.1.3 Características hidrológicas

A geometria de corpos estuarinos, a salinidade da água e a circulação da região costeira adjacente exercem influência sobre a circulação dos estuários (Miranda, 1996). No caso do CEP as correntes de maré, com influência sazonal do aporte fluvial (Knoppers *et al.*, 1987) são os fenômenos que mais influenciam sua circulação.

A porção leste, mais externa do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá, é dominada por águas da plataforma continental adjacente, enquanto que a porção oeste sofre maior influência fluvial. O maior aporte de rios está localizado na margem sul e nos setores internos da baía. A descarga média anual de água doce é de $150 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, alcançando valores mais elevados no período de intensa precipitação (janeiro – fevereiro).

O Estuário apresenta uma micromaré (Marone & Jamiyanaa, 1997) predominantemente semidiurna com desigualdades diurnas, sendo a amplitude média de 1,4 m na quadratura e 1,7 m na sizígia.

O eixo L, escolhido para a amostragem da MOD neste estudo, sofre a maior influência do aporte de água doce de sua bacia de drenagem em relação ao eixo N – S, apresentando resposta mais rápida e intensa aos processos relacionados à estratificação da coluna d'água, intrusão salina, aporte de sedimentos fluviais e formação da zona de máxima turbidez. Outra característica hidrológica importante é o tempo de residência da água, que é de 3,49 dias para o Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (Sá, 2003).

4.1.4 Bacia Hidrográfica do Rio Nhundiaquara

A Bacia Hidrográfica do Rio Nhundiaquara (25°40'55" e 49°37'45"S e 48°40'55" e 49°00'41"W) compõe uma área de 739,36 Km² (Bassfeld, 2001) e compreende os rios São João, Mãe Catira, Ipiranga, Marumbi, Rio do Pinto, Passa Sete, Sagrado, Sambaqui, São Joãozinho, Sepetanduva, entre outros pequenos tributários, além do próprio Nhundiaquara. O rio desagua em forma de delta na Baía de Paranaguá entre as cidades de Paranaguá e Antonina e sua bacia hidrográfica resulta principalmente da integração das micro-bacias do Rio São João, Mãe Catira e a do Rio Ipiranga (Lombardi, 2006).

4.1.5 Zona de Máxima Turbidez

Estudos anteriores identificaram a presença de uma Zona de Máxima Turbidez na região entre as Ilhas de Gererês e o Porto de Paranaguá, migrando longitudinalmente durante o ciclo de maré semi diurna característica desse estuário (Mantovanelli, 1999; Noernberg, 2001; Mantovanelli *et al.*, 2004). Relacionado à ocorrência dessa zona tem-se a geometria do corpo estuarino, a intensidade das correntes de maré e a estratificação da coluna d'água.

4.2 Amostragem

As estações de amostragem localizaram-se na desembocadura do Rio Nhundiaquara e na zona de máxima turbidez da Baía de Paranaguá (figura 5).

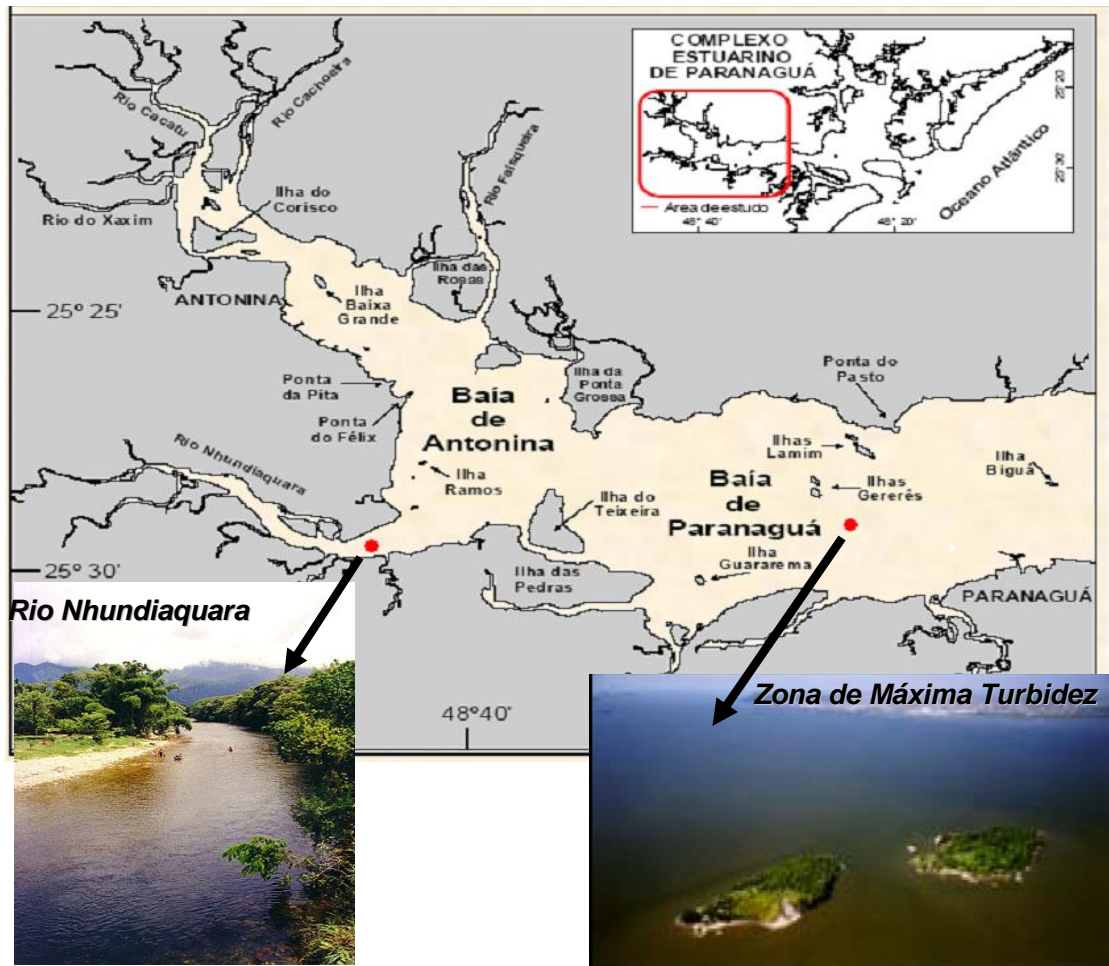


Figura 5. Mapa do eixo L do complexo estuarino da Baía de Paranaguá com destaque para os pontos de amostragem.

Como a ZMT possui um carácter migratório, antes das amostragens realizou-se um transecto longitudinal através da baía determinando-se os valores de turbidez da água. Após encontrada a maior concentração de sedimentos em suspensão, definia-se a presença da zona de máxima turbidez, onde foram feitas as coletas.

Foram efetuadas quatro amostragens na ZMT, duas no verão (Dezembro/2005), onde a influência da estação chuvosa é maior, e duas no inverno (Agosto/2006), onde a influência da estação seca é maior. Em cada estação foram coletadas amostras nas marés de sizígia e quadratura, para que a influência das diferentes marés no estuário sobre a fluorescência da MOD fosse determinada. A maré de sizígia corresponde aos períodos de lua nova e cheia, e apresenta maiores variações nas amplitudes de maré que as que ocorrem na maré de quadratura. As marés de quadratura ocorrem nas luas crescente e minguante.

Cada coleta na ZMT teve a duração de 12 horas, ou seja um ciclo completo de maré. As amostras de água eram coletadas de 2 em 2 horas, o que possibilitou a correlacionar a fluorescência com as variações de maré. Em cada amostragem foram coletadas água de fundo e superfície com o auxílio de uma garrafa de Niskin. Algumas propriedades físico-químicas das amostras, tais como salinidade, temperatura, zona eufótica e turbidez foram determinadas imediatamente após a coleta, ainda em campo.

Para se caracterizar a matéria orgânica dissolvida de origem terrestre que estaria entrando no estuário, uma amostragem foi efetuada no Rio Nhundiaquara próximo à sua desembocadura. Apenas uma amostragem foi efetuada, pois a composição da MOD fluorescente neste tipo de ambiente costuma não ser variável.

Em campo, as amostras coletadas para a determinação da fluorescência, nutrientes inorgânicos (N-Total, P-total, NO_2 , NO_3 , NH_4 , PO_4 , Si), seston e clorofila foram mantidas em temperatura ambiente. As amostras de oxigênio dissolvido foram fixadas imediatamente após a coleta e estocadas no escuro dentro de um isopor e mantidas em temperatura da água até o retorno ao laboratório.

4.3 Análise das amostras

4.3.1 Parâmetros físico-químicos

Em laboratório as amostras de nutrientes inorgânicos foram filtradas em filtros Schleicher & Schuell (GF-52C 1,2 μm diâmetro de poro), acondicionados em frascos de polietileno e conservadas sob refrigeração (4 °C), até o momento da análise. As concentrações de nutrientes inorgânicos dissolvidos, nitrogênio e fósforo total, pH,

oxigênio dissolvido, clorofila-a, feopigmentos, alcalinidade e seston foram determinadas. A metodologia de análise laboratorial seguiu o procedimento descrito em Strickland & Parsons (1972), com modificações propostas por Carmouze (1994) e Grasshoff *et al.* (1983). As determinações foram realizadas no laboratório de Biogeoquímica do Centro de Estudos do Mar da Universidade Federal do Paraná (CEM – UFPR).

4.3.2 Espectroscopia de fluorescência

A contribuição continental quanto à entrada de material orgânico dissolvido e o comportamento desse material no Complexo Estuarino de Paranaguá foram investigados através da técnica de espectroscopia de fluorescência. A contribuição alóctone da MOD foi verificada em amostras obtidas na desembocadura fluvial (Rio Nhundiaquara) e na região da ZMT. Baseando-se nas diferenças entre os máximos de emissão de fluorescência característicos da MOD continental e marinha, pode-se avaliar a contribuição de cada origem no total de MOD do ambiente estuarino. A técnica também foi utilizada para investigar as transformações às quais a MOD está sujeita na ZMT. Para tanto, foram empregados espectros de emissão de fluorescência, excitação simples e excitação sincronizada.

As amostras que seguiram para análise de fluorescência foram filtradas em filtros de membrana com 0,22 μm de diâmetro de poro (Sartorius), previamente lavados com HNO_3 1,0 mol.L^{-1} (24 h) para remoção de possíveis elementos metálicos, que poderiam causar alteração qualitativa e quantitativa do sinal fluorimétrico (Lombardi e Jardim, 1999). A filtração foi realizada em ambiente estéril em uma cabine de fluxo laminar vertical e o filtrado foi estocado em frascos previamente esterilizados por autoclavagem. Em seguida, as amostras foram guardadas a 4 °C, no escuro até o momento de análise. Uma das vantagens da utilização da técnica de espectroscopia de fluorescência molecular é que as amostras podem permanecer estocadas por até um ano sem que haja alterações estruturais na amostra.

As análises de fluorescência foram realizadas utilizando-se um espectrofluorômetro JASCO (FP 6500, Japão), equipado com uma lâmpada de xenônio de 150 W como fonte de luz. O instrumento inclui em sua configuração

interna correção automática para variações de intensidade da fonte de luz além de características espectrais, tanto da fonte de luz como do monocromador de excitação.

Para todas as análises, o monocromador de excitação foi ajustado em 5 nm de amplitude de banda, enquanto o de emissão em 10 nm. Um monocromador de excitação tem por finalidade estabilizar a fonte de luz de excitação e possibilitar seu controle quanto ao comprimento de onda fixado. A velocidade de varredura foi ajustada para 200 nm.minuto⁻¹ para ambos os monocromadores.

Os espectros de emissão de fluorescência foram registrados com a amplitude de varredura de 370 – 600 nm com comprimentos de onda de excitação fixos, cada um deles equivalentes a uma classe de fluoróforos pertencentes à MOD natural. Para a primeira classe de fluoróforos a amostra foi excitada em comprimento de onda 350 nm (primeira classe de fluoróforos) e em 450 nm (segunda classe de fluoróforos). Espectros nas mesmas condições, porém realizados com água Milli-Q (branco) foram subtraídos das amostras com a finalidade de eliminação do pico Raman da água.

Os espectros de excitação foram obtidos com uma amplitude de varredura de 300 – 550 nm e a emissão da radiação foi registrada em comprimento de onda fixo em 560 nm.

Os espectros de excitação sincronizada foram quantificados através da varredura simultânea de 300 a 600 nm dos comprimentos de onda de excitação e emissão, mantendo-se constante em 18 nm a diferença entre os comprimentos de onda de emissão e excitação ($\delta=18$ nm). Nesse espectro, o pico Raman da água Milli-Q encontra-se fora da amplitude de varredura (Lombardi, 1995). No entanto, as mesmas condições foram aplicadas ao branco que foi subtraído da amostra.

Os comprimentos de onda utilizados neste trabalho foram escolhidos de acordo com o sugerido em bibliografia especializada (Miano *et al.*, 1988; Ryan e Weber, 1982b; Ventry *et al.*, 1991; Lombardi & Jardim, 1999). Todas as medidas de fluorescência foram feitas em pH variando entre 6.0 e 7.5 e a temperatura ambiente foi mantida em $21 \pm 1^\circ\text{C}$. Apesar do pH ser uma variável que pode afetar o sinal fluorimétrico, a variação apresentada foi testada nas próprias amostras e mostrou-se insignificante frente às condições do equipamento. A força iônica das amostras não foi ajustada, optando-se pela manutenção da salinidade natural do material, uma vez

que a salinidade foi uma das variáveis consideradas.

4.4 Análises estatísticas

As análises multivariadas são aplicadas para tratar matrizes complexas contendo dados variados, permitindo a comparação das variáveis e acrescentando informações que permitam conclusões adicionais em relação às metodologias estatísticas básicas. No presente trabalho foram empregadas três técnicas dentro da estatística multivariada: análise de agrupamento (*Cluster*), escalonamento multidimensional (MDS) e a análise de componentes principais (PCA). No primeiro, averiguou-se o agrupamento das amostras em relação aos comprimentos de onda de emissão para as duas classes de fluoróforos; com a análise MDS objetivou-se observar graficamente possíveis similaridades, dissimilaridades ou regularidades nos resultados de comprimento de onda de emissão; já com a análise de componentes principais buscou-se definir as relações entre as variáveis físico-químicas (salinidade, clorofila a, seston, N-Total, P-Total, NO₂, NO₃, NH₄, PO₄, Si) e os comprimentos de onda de emissão, e desta forma saber quais são as variáveis significativas para o comportamento da MOD na Baía de Paranaguá.

Para a análise de *cluster* e MDS, uma matriz de similaridade foi calculada em base a distância euclidiana sobre a matriz de dados de ambos os comprimentos de onda de emissão (350 e 450 nm). Baseado nas matrizes de similaridade de cada comprimento de onda de emissão, o escalonamento multidimensional foi realizado e os resultados apresentados graficamente. Para a análise de *cluster*, ainda executou-se uma análise de agrupamento hierárquico por grupos médios (hierárquico aglomerativo *cluster*) para em sequência se produzir um ordenamento hierárquico aglomerativo (dendograma). As análises foram realizadas por meio do programa PRIMER 5 for Windows (PRIMER-E Ltda, 2001, versão 5.2.0).

Dentre as análises multivariadas, as Análises de Componentes Principais está entre as ferramentas de ordenação de dados mais exploradas (Persson & Wedborg, 2001). As PCAs são fundamentadas em correlações entre as variáveis da matriz de dados original. Baseado nestas correlações, uma matriz de semelhanças é formada e desta se estabelece um conjunto de eixos perpendiculares entre si, chamados componentes. Em seguida são calculados os autovetores, ou seja, a projeção de

cada variável em cada eixo, o que permite ordená-las em ordem crescente para cada eixo. Quanto mais próximo de 1.0 o valor do autovetor, mais correlacionado está a variável em relação ao eixo; valores negativos significam que as variáveis estão negativamente correlacionadas ao eixo. Para este estudo foram interpretadas as variáveis que apresentaram resultados iguais ou superiores a 0,10, que representa uma boa associação entre uma variável e um fator (eixo). Cada eixo explica uma porcentagem das variâncias e, ao final relaciona-se os eixos que explicam a maior parte das variâncias. Desta forma a PCA produz como resultado uma nova matriz, de tamanho reduzido, e um gráfico mostrando as relações entre as variáveis e entre variáveis e amostras, facilitando a análise dos dados.

Neste estudo o emprego da análise de componentes principais sobre as matrizes de dados ambientais do Sistema Estuarino de Paranaguá foi precedido por um teste de colinearidade entre as variáveis; variáveis altamente correlacionadas interfeririam na análise de componentes principais e, portanto, apenas uma das variáveis colineares deve integrar a PCA. A análise de colinearidade e a PCA foram realizadas com o uso do programa MVSP 3.11 (Copyright Kovach Computing Services).

5. Resultados e Discussão

5.1 Abordagem geral

Os estuários constituem os únicos ecossistemas onde ocorre a interação entre as águas doces, as águas marinhas, o sistema terrestre e a atmosfera (Day *et al.*, 1989). São ambientes dinâmicos que respondem a forças físicas em escalas de tempo que variam desde semi-diurnas (marés), quinzenais (sizígia e quadratura) até sazonais (descarga dos rios) (Goni *et al.*, 2005). Esta volubilidade, somada à combinação de múltiplas fontes de MOD, tais como águas fluviais, pluviais, vegetação, manguezais, alagados, fitoplâncton, influência antrópica, história de exposição solar, transformação diagenética, além de processos de degradação, faz com que a dinâmica da MOD em estuários seja bastante variável, caso que se aplica ao Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá.

5.2 Emissão

As substâncias húmicas possuem pelo menos duas classes de fluoróforos, uma excitável entre 310 - 390 nm e outra entre 410 - 470 nm (Lombardi & Jardim, 1999), desta forma as análises foram feitas englobando estas duas categorias de fluoróforos. Cada uma dessas classes são constituídas por uma ampla variedade de compostos fluorescentes. Como consequência tem-se que o pico de máxima emissão de fluorescência dos materiais de natureza húmica, tal qual a MOD natural varia conforme varia-se o comprimento de onda da excitação aplicada. Outra consequência da mistura complexa de fluoróforos é a base larga presente nos picos de emissão e a ausência da imagem especular Ex/Em normalmente observada para compostos puros. Apesar dessas variáveis complicadoras para a análise de fluorescência, esta tem sido usada com sucesso como rastreador de MOD em ecossistemas aquáticos (Lombardi, 1995). Assim, variações obtidas nos máximos de emissão para a primeira e segunda classe de fluoróforos mantendo-se fixas as excitações são consideradas como sendo o resultado de variações naturais da MOD como sendo influenciada pelos diversos aspectos ambientais. Com tal fundamento, os comprimentos de onda de máxima emissão obtidos neste estudo permitiram

traçar assinaturas e inferir sobre as origens, sumidouros e composição da MOD do Complexo Estuarino de Paranaguá.

Assinaturas da MOD do Estuário de Paranaguá

Para caracterização da assinatura de cada ambiente (marinho ou terrestre) foram identificados os comprimentos de onda característico de cada ambiente envolvido neste estudo (marinho ou terrestre). Foi definida como a assinatura marinha o comprimento de onda de emissão referente às amostras de maior salinidade, ou seja, aquelas de maior influência marinha; para a assinatura terrestre, foi considerado o comprimento de onda de emissão obtido nas amostras coletadas no Rio Nhundiaquara.

5.2.1.1 Primeira classe de fluoróforos ($\lambda_{em}=350nm$)

As intensidades de fluorescência correspondentes à primeira classe de fluoróforos obtidas neste estudo apontam assinaturas distintas para a MOD alóctone e autóctone do Estuário de Paranaguá. Constatou-se que existe uma tendência de emissão em comprimentos de onda mais curtos para as amostras de água salgada em relação às amostras coletadas no rio Nhundiaquara (figura 6).

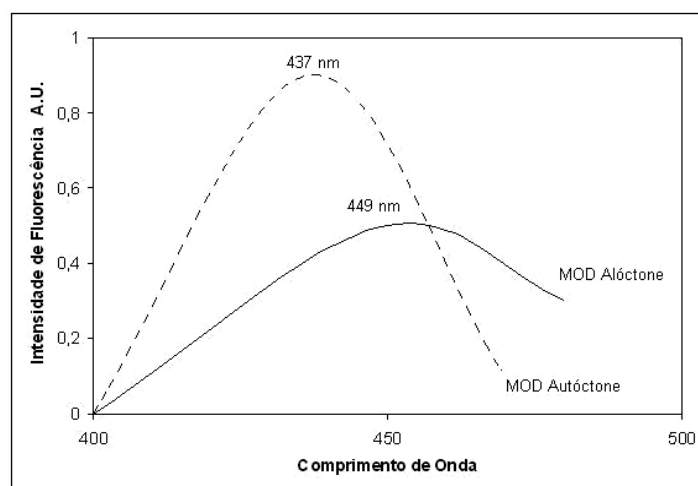


Figura 6: Assinatura da MOD característica da primeira classe de fluoróforos (espectros de emissão fixados em λ_{ex} 350 nm). MOD autóctone refere-se à amostra de água do estuário, enquanto MOD alóctone à amostra de água do Rio Nhundiaquara.

Ao comparar-se os valores de emissão em situações de alta salinidade, uma diferença de 12 nm foi verificada entre os dois ambientes ($\lambda_{\text{ex}} / \lambda_{\text{em}}$ 350/437 ± 2 nm para a MOD autóctone (estuário) e $\lambda_{\text{ex}} / \lambda_{\text{em}}$ 350/449 ± 2 nm para a MOD alóctone (Rio Nhundiaquara)).

A diferença de emissão entre os ambientes estuarinos e de água doce foi descrita anteriormente por diversos autores (De Souza-Sierra *et al.*, 1994; Coble, 1996; Lombardi & Jardim, 1999). O deslocamento dos comprimentos de onda de máxima emissão, mantendo-se fixa a excitação, relaciona-se à massa molecular e aromaticidade da MOD. Quando o deslocamento dá-se em sentido à região do vermelho (*red shifted*), que são comprimentos de onda mais longos, significa segundo Baker & Spencer (2004), que tanto maior deverá ser a massa molecular e aromaticidade da MOD. Por outro lado, se o deslocamento dá-se em sentido aos comprimentos de onda mais curtos como os marinhos (*blue shifted*), significa que, tanto menor será a massa molecular dos constituintes daquela MOD.

Coble (1996) atribuiu a emissão verificada em comprimentos de onda mais curtos para as amostras marinhas em comparação com as de água doce a um acréscimo da diferença entre as energias do estado excitado e não excitado, resultantes de mudanças estruturais (queda no número de anéis aromáticos e pontes conjugadas ou eliminação dos grupos carbonila e hidroxila). Sabe-se que os constituintes da MOD marinha possuem componentes estruturais de menor aromaticidade (mais alifáticos), com menor massa molecular, menor grau de policondensação e menores níveis de cromatóforos conjugados (Benner, 1998, Chen *et al.*, 2003). Essas características da MOD marinha foram confirmadas através dos resultados obtidos nesta pesquisa ao compararmos o máximo de emissão de fluorescência para a primeira classe de fluoróforos.

5.2.1.2 Segunda classe de fluoróforos ($\lambda_{\text{em}}=450\text{nm}$)

As intensidades de fluorescência emitidas pela segunda classe de fluoróforos observadas neste estudo sugerem que os constituintes fluorescentes da MOD alóctone e autóctone possuem assinaturas similares (figura 7). Ou seja, os comprimentos de onda emitidos por esta classe são comuns em ambos os

ambientes ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$ 450/516 \pm 2 nm para a MOD autóctone e $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$ 450/518 \pm 2nm para a MOD alóctone). Estes resultados concordam com a literatura (De Souza-Sierra *et al.*, 1994; Lombardi & Jardim, 1999).

Segundo Clark *et al.* (2002) parte da MOD fluorescente (FMOD) de rios contém fluoróforos similares à marinha. Acredita-se também que substâncias pertencentes a esta classe são mais resistentes aos ataques microbianos, o que lhes dá um caráter mais conservativo durante a mistura das águas (Boyd & Ousburn, 2004).

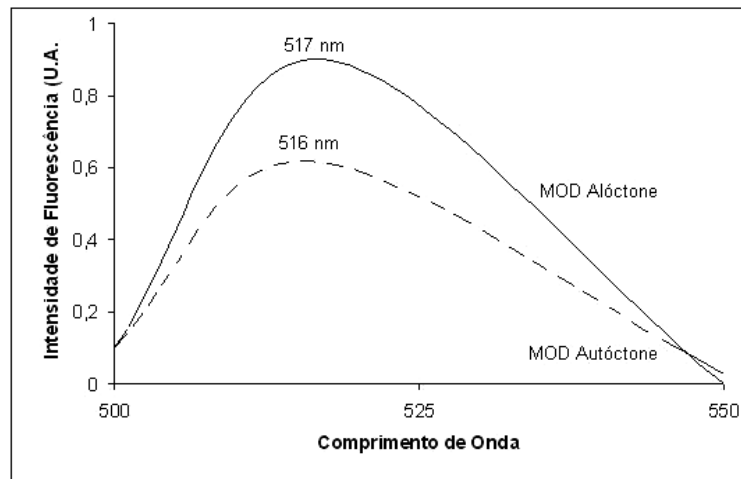


Figura 7: Assinatura da MOD característica da segunda classe de fluoróforos (espectros de emissão fixados em λ_{ex} 450 nm). MOD autóctone refere-se à amostra de água do estuário, enquanto MOD alóctone à amostra de água do Rio Nhundiaquara.

5.2.2 Alterações na MOD do Estuário de Paranaguá

A variedade de comprimentos de onda de emissão encontrada na MOD das águas estuarinas de Paranaguá (figura 8) quando comparados à assinatura característica dos ambientes dulcícola e marinho apontam para uma alteração na conformação da MOD alóctone a partir do momento em que esta atinge a zona de mistura e passa a ser parte da MOD estuarina. Este estudo sugere que as alterações físico-químicas da água do estuário são primariamente responsáveis pelas mudanças observadas na MOD alóctone. Após estas alterações acredita-se

que a fotodegradação e a biodegradação passam a ser determinantes na transformação da MOD cromofórica.

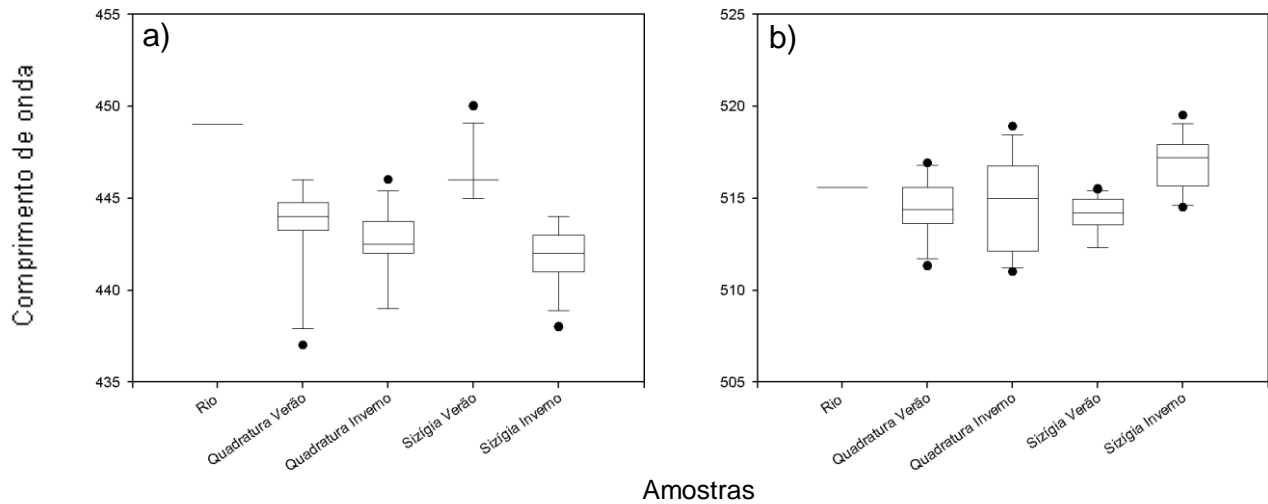


Figura 8: Variação do comprimento de onda médio obtidos a partir dos espectros de emissão em relação às amostras. a) Representa primeira classe de fluoróforos (350nm) e b) representa segunda classe de fluoróforos (450nm). As barras delimitam o 90º (acima) e 10º percentil (abaixo); as caixas delimitam o 75º (acima) e 25º percentil (abaixo). Os pontos negros representam dados *outliers*.

Margens continentais são ambientes importantes para a ciclagem biogeoquímica do carbono orgânico nos oceanos. Como são ambientes transicionais, tal qual as margens continentais, os estuários possuem um papel importante na regulação do ciclo do carbono e materiais associados entre a costa e o oceano. Os estuários recebem matéria orgânica (MO) de múltiplas fontes, as quais incluem plantas vasculares, matéria orgânica derivada do solo, e restos de algas e microorganismos (Raymond & Bauer, 2000; Leithold & Blair, 2001; Canuel, 2001). Uma vez que estes compostos entram no estuário as transformações dessas diferentes formas de MO vão depender de propriedades físico-químicas inerentes e do tempo de residência.

Sabe-se que as propriedades fluorescentes de uma substância são dependentes primariamente da sua estrutura molecular, porém o ambiente em que a substância está presente influencia diretamente os fluoróforos uma vez que fatores como

temperatura, solvente, pontes de hidrogênio, íons metálicos e a presença de outros solutos podem alterar a conformação molecular e portanto a fluorescência das moléculas (Coble, 1996).

Há dois tipos conhecidos de mudanças estruturais que podem gerar um *blue shift* de emissão. O primeiro tipo é a redução na extensão dos sistemas de π elétrons através de: *i*) um decréscimo no número de anéis aromáticos, *ii*) redução de pontes conjugadas na cadeia estrutural, *iii*) conversão de um sistema de anéis lineares para um sistema de anéis não lineares e o segundo tipo é a eliminação de certos grupos funcionais como carbonil, hidroxil, e amina (Senesi *et al.*, 1990, Coble, 1996).

As mudanças decorrentes da exposição a radiação solar incluem perda na absorção e eficiência de fluorescência (fotobranqueamento), queda na média da massa molecular, produção de componentes biológicos lábeis, incluindo gases carbônicos inorgânicos e orgânicos, baixa massa molecular dos componentes carbonila orgânicos e produção de componentes de alta massa molecular não característicos (Coble *et al.*, 1998).

A fotodegradação da MOD fluorescente (FMOD) também produz compostos de carbono orgânico voláteis que são transferidos na fronteira entre mar e atmosfera, participando de reações futuras que poderão impactar a atmosfera local. Outros produtos fotoquímicos incluem espécies reativas que reagem com outras substâncias como metais (ex. ferro) e outras substâncias no oceano em uma complexa série de reações redox secundárias e reações fotoquímicas que afetam a biota marinha (Clark *et al.*, 2002). Desta forma a FDOM participa de um centro de ciclagem fotoquímica que pode impactar criticamente o ambiente marinho.

A ZMT é uma zona transeunte comum em muitos estuários e, nela, o tempo de residência das partículas é ampliado. Isso decorre do fato de que as partículas são aprisionadas por processos físico-químicos e então ressuspendidas pela força da maré (Herman & Heip, 1999). Tais características fazem com que a degradação do material alóctone seja intensa, bem como a produção de novo material fluorescente (Klinkhammer *et al.*, 2000). Outra característica exibida pela ZMT é sua condição de anoxia. Esta zona apresenta uma condição mais anaeróbica do que outras regiões do estuário.

As bactérias de um dado ambiente degradam a MOD até que nenhuma energia ou carbono estejam disponíveis. Porém quando a MOD muda de ambiente, como é

o caso da MOD amostrada neste trabalho que passa do ambiente dulcícola para o estuarino, a alteração na força iônica faz com que novos sítios se tornem disponíveis para a degradação. Nesse cenário a MOD alóctone é degradada preferencialmente sobre a autóctone e suas propriedades fluorescentes são alteradas fazendo com que sua emissão ocorra em comprimentos de onda mais curtos (Boyd & Osbourn, 2004). Atualmente, acredita-se que a atividade microbiana é um caráter determinante na transformação da MOD, retirando das águas estuarinas cerca de 10% do input de MOD de água doce (Raymond & Bauer, 2001).

Estas transformações são particularmente importantes em sistemas que contêm altos índices de MOD antropogênica (Callahan *et al.*, 2004) como é o caso do estuário de Paranaguá (Lombardi, 2006).

A matéria orgânica terrestre que entra no estuário de Paranaguá sofre a ação antrópica e desta forma é modificada. Tais modificações interferem diretamente na dinâmica do carbono nos estuários, uma vez que o material alóctone que entra no estuário chega ao mar aberto completamente alterado.

De maneira geral, tem sido reportado que o aumento das temperaturas no verão e das chuvas em decorrência do aquecimento global facilitam a quebra da MOD pelas bactérias, além de aumentar a incidência de raios UV que são os principais causadores da fotodegradação. Além disso, a dragagem do sedimento do canal interfere diretamente nos processos de transporte e ressuspensão da MOD, e o impacto antrópico enriquece a água com proteínas.

5.2.3 Análise de componente principais (PCA)

5.2.3.1 Primeira classe de fluoróforos (350nm):

Os dois fatores principais extraídos da matriz de dados originais pela PCA correspondem a 56% da variância total dos dados. Na tabela 1 são apresentados apenas os autovetores das variáveis que possuem valor igual ou superior a 0,10. Estas 2 novas variáveis apresentam as correlações de dados descritas abaixo. Na tabela 2 (em anexo) estão descritos os valores de *Factor Scores* para cada amostra.

A figura 9 apresenta os resultados da PCA (autovetores e *Factor Scores*) de forma gráfica.

Tabela 1. *Factor loadings* estimados através do rearranjo de 12 variáveis da matriz original dos dados. Os valores relacionados ao comprimento de onda se referem à emissão da primeira classe de fluoróforos (350nm). Apenas valores maiores ou iguais a 0,40 são apresentados. Os fatores estão numerados consecutivamente em ordem decrescente de explicação da variância.

Variável	Fator 1	Fator 2
% Variância	41,7	14,2
λ	-0,34	-----
Salinidade	0,36	0,24
Clorofila	-0,26	0,13
Seston	-----	-----
OD	-0,11	0,27
POT	0,30	-----
NOT	0,36	-----
PO ₄	-----	-0,62
NO ₂	0,35	0,11
NO ₃	0,38	-----
Si	-0,20	0,57
NH ₄	0,37	0,30

Como os objetivos deste estudo visam a caracterização e a contribuição da MOD no ecossistema de Paranaguá, *factor scores* que não englobam relações diretas com comprimento de onda não serão discutidos.

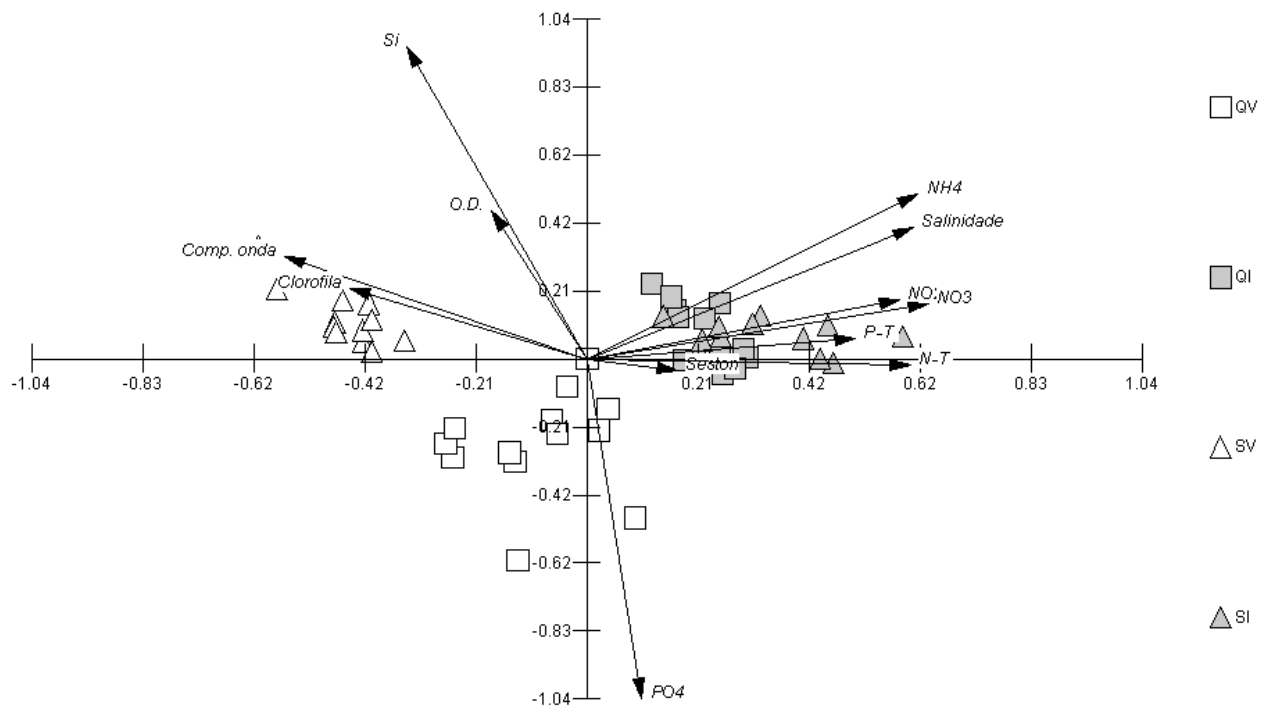


Figura 9. Autovetores e *Factor Scores* estimados através do rearranjo de 12 variáveis da matriz original dos dados representados em um sistema gráfico bidimensional. A variável comprimento de onda corresponde aos valores de emissão da primeira classe de fluoróforos (350nm). Escala do Fator: 1,68. QV = Quadratura Verão; QI = Quadratura Inverno; SV = Sиз́gia Verão; SI = Sиз́gia Inverno.

5.2.3.1.1 Fator 1 (F1)

Este é o fator principal da matriz, que responde por mais de 41,73% das correlações. F1 apresenta uma correlação positiva entre os comprimentos de onda emitidos e as concentrações de clorofila *a*. Também indica uma correlação negativa entre as variáveis citadas acima e a salinidade, as concentrações de P-Total, N-Total, NO₂, NO₃ e NH₄. As correlações entre cada amostra e as novas variáveis (*factor scores*) são apresentadas na tabela 2 (em anexo). Os valores de *factor score*

estimados para cada amostra revelaram que estas correlações são mais fortes preferencialmente na estação seca.

5.2.3.1.1.1 Correlação negativa entre comprimento de onda e salinidade

Estação seca

Os resultados da PCA deste estudo indicaram que os espectros de fluorescência da primeira classe de fluoróforos, quando correlacionados à salinidade, mostraram que o estuário não só é influenciado pela MOD terrestre como também esta é transformada quando entra na zona de mistura.

A intensidade de emissão na região de 450–480 nm (primeira classe de fluoróforos) pode ser utilizada para indicar a presença ou ausência de compostos de alta massa molecular e húmicos poli-condensados. Um aumento na emissão de fluorescência nesta região pode ser resultante de um acréscimo de material de alta massa molecular, portanto de origem principalmente alóctone (Chen *et al.*, 2003).

Quando comprimentos de onda mais longos são emitidos significa que a amostra possui uma maior quantidade de moléculas fluorescentes conjugadas e que os fluoróforos responsáveis pela fluorescência são mais aromáticos e possuem mais grupos funcionais. Segundo Stedmon *et al.*, (2003) tais características são relativas a MOD alóctone que é mais complexa, oriunda de vegetação superior rica em taninos e ligninas.

Sabe-se que quando a MOD alóctone entra no estuário vivencia transformações em sua constituição, o que pode afetar seu material fluorescente. Tais transformações podem estar relacionadas à mistura de fluoróforos e a alterações na massa molecular causados pelas diferentes condições encontradas neste novo meio (água salgada). Dentre as alterações mais comuns estão a floculação, a fotodegradação e a biodegradação (De Souza-Sierra, 1994). Estes processos geram alterações na conformação da molécula cromofórica e alteram a assinatura (comprimento de onda característico) bem como a composição (massa molecular)

da MOD alóctone fazendo com que estas emitam a fluorescência em comprimentos de onda mais curtos (*blue shifted*). Essa queda no comprimento de onda de emissão é geralmente atribuída a uma maior diferença de energia entre o nível não excitado e o nível mais excitado (Coble, 1996). Senesi (1990) também atribuiu estes efeitos à grande proximidade entre os cromatóforos aromáticos e consequentemente à grande probabilidade de desativação dos estados excitados por redução do sinal fluorimétrico (*quenching*) interno em moléculas de alto massa molecular.

Dessa forma os resultados desta pesquisa confirmaram informações da literatura quanto à ocorrência de uma correlação negativa entre salinidade e comprimento de onda de emissão. Isso decorre pois, quanto maior for a salinidade, maior deverá ser a influência da zona de mistura e assim maior o efeito sobre os fluoróforos terrestres, bem como será tanto maior a frequência do material autóctone na composição da MOD.

Estação chuvosa

Sabe-se que a composição cromofórica da MOD não é constante (Nelson & Siegel, 2002), sua flutuação espacial e temporal reflete os balanços entre a produção, transformação e remoção dos ambientes aquáticos (Boehme & Wells, 2006). Dessa forma existe um interesse no entendimento das alterações não conservativas das propriedades fluorescentes da MOD durante sua passagem pela zona de mistura estuarina (De Souza-Sierra *et al.*, 1997).

Da mesma forma que vários estudos reportam apenas a presença de uma mistura conservativa da FMOD em águas estuarinas, outros autores descrevem que em um mesmo estuário também podem ser detectadas misturas com tendências não conservativas (De Souza-Sierra *et al.*, 1997; Del Castillo *et al.*, 2000), fato este também observado no presente estudo.

Os espectros de emissão de fluorescência obtidos sugerem que a MOD coletada durante a estação chuvosa não apresenta uma mistura conservativa. Sabe-se que apesar da correlação negativa entre FDOM e salinidade, há também a influência de variações sazonais como demonstrado neste trabalho e corroborado pelos dados de Chen *et al.* (2002).

O período chuvoso do complexo estuarino de Paranaguá ocorre durante o verão, sendo que esta estação é caracterizada por um aumento das temperaturas da água, bem como da incidência de radiação. Essas situações podem acarretar uma aceleração nos processos de degradação bacteriana e também uma maior fotodegradação da MOD, tanto alóctone como autóctone e, conseqüentemente causar o branqueamento dos fluoróforos.

Uma hipótese bem discutida é que a emissão em comprimentos de onda mais curtos pode ser resultante da entrada de material alóctone envelhecido nas zonas costeiras, ou seja, tais fluoróforos permaneceriam por longos períodos nos ecossistemas dulcícolas expostos a fatores degradativos (fotoquímica ou bioquímica) e então entrariam no estuário apresentando uma emissão menor que a característica (Benner, 1998). É também de comum acordo que rios próximos de locais agrícolas e urbanizados, como é o caso dos rios que chegam ao estuário, são mais largos e expostos à eventos atmosféricos do que rios florestados, o que poderia expor a MOD a maiores níveis de irradiação e também a maior degradação gerando uma FMOD de menor massa molecular (Kelton *et al.*, 2007).

Uma das características da zona de máxima turbidez (ZMT) é o aumento do tempo de residência das partículas, aumentando a exposição aos fatores físico químicos e à probabilidade da MOD em sofrer processos de perda de material fluorescente. Além disso, a concentração de material autóctone na ZMT tende a ser acumulada mais facilmente do que em outras regiões do estuário. Esta zona também possui altas taxas de mistura, podendo resultar em remobilização e suspensão da MOD que decantou, voltando esta a integrar a coluna d'água (esta MOD emite fluorescência em comprimentos de onda mais curtos), em períodos de marés mais dinâmicas como as que ocorrem durante o período chuvoso. Isto resulta em máximos de emissão em comprimentos de onda, interferindo, portanto, sobre o comportamento conservativo da MOD (Coble *et al.*, 1998).

As mudanças não conservativas podem também ser indicativas de que fontes adicionais de FMOD estariam atuando nos estuários (Clark *et al.*, 2002; Boyd & Osburn, 2004). O estuário de Paranaguá possui vários ecossistemas distintos que vêm, ao final, influenciar a composição de sua MOD (Lana *et al.*, 2001). Durante o verão, possivelmente pelo aumento da vazão e também pelo aumento na dinâmica do sistema em relação ao inverno, é possível que a contribuição dessas fontes no

estuário seja ampliada. Com isso ter-se-ia uma MOD menos complexa emitindo em comprimentos de ondas mais curtos.

A baixa intensidade de emissão de fluorescência também pode ser atribuída à quebra de compostos aromáticos e polifenólicos e ao enriquecimento da MOD autóctone por carboidratos não fluorescentes. Como durante o período chuvoso (verão) há um aumento da população na região litorânea devido ao turismo, aumenta também a entrada de compostos orgânicos diversos no estuário, bem como na água do rio Nhundiaquara. Essa MOD recém produzida seria a responsável pela emissão em comprimentos de onda mais curtos do espectro.

Uma outra explicação para a emissão em comprimentos de onda mais curtos é a possibilidade de alta produtividade de materiais orgânicos excretados pelo fitoplâncton. Estes materiais são, em sua maioria, compostos alifáticos, ácidos orgânicos, carboidratos, e outros compostos de utilização e degradação rápida, podendo resultar em emissão do material fluorescente em comprimentos de onda mais curtos (Parlanti *et al.*, 2000).

5.2.3.1.1.1 Correlação negativa entre comprimento de onda e clorofila com os nutrientes.

Estação seca

Durante o período seco, correspondente ao inverno, os comprimentos de onda emitidos pela MOD de Paranaguá foram relativamente mais curtos que os observados no período chuvoso. Assim sendo a MOD demonstrou ser composta predominantemente por compostos menos complexos e mais relacionados à SH marinha. As concentrações de clorofila *a* para este período também foram mais baixas, denotando menor quantidade de organismos fitoplanctônicos.

Sabe-se que na estação seca (inverno) o aporte de águas dulcícolas, carreadoras de MOD com características mais aromáticas e, portanto, fluorescentes em comprimentos de onda mais longos, é reduzido devido ao menor volume dos rios. Isso poderia levar ao predomínio de máximos de emissão em comprimentos de onda mais curtos nas amostras do estuário.

Outra correlação obtida neste trabalho é que a concentração de clorofila *a* aumenta com a redução da concentração dos nutrientes essenciais ao crescimento fitoplanctônico, isto ecologicamente pode ser explicado pelo fato de que esses nutrientes estão sendo consumidos pelo fitoplâncton e por isso são encontrados em menores concentrações.

Várias observações da literatura mostram que o comprimento de onda emitido por uma amostra pode não ter relações com os valores de clorofila *a* (Tranvik & Bertilsson, 2001; Rochelle-Newall & Fisher, 2002; Chen *et al.*, 2002), ou seja, não se deve, de fato, esperar que altos valores de clorofila *a* impliquem em comprimentos de onda mais curtos (compostos mais alifáticos). Isto decorre do fato de que o fitoplâncton não produz FMOD diretamente, existindo um espaço de tempo entre a produção primária e a formação do material fluorescente.

Estação chuvosa

A ZMT é uma zona onde a mineralização e nitrificação são favorecidas, o que pode estar relacionado ao longo tempo de residência das partículas. Tais processos podem disponibilizar nutrientes ao sistema e, desta forma, intensificarem a produção de material autóctone (compostos mais alifáticos e com emissão em comprimentos de onda menores). Durante o verão, a correlação negativa entre comprimento de onda e clorofila *a* versus nutrientes não foi observada, provavelmente por se tratar de uma estação dinâmica e turbulenta. As chuvas carregam materiais e detritos para o sistema, as correntes ficam mais fortes, a ressuspensão é maior, o aporte de água doce também cresce. Estas características provavelmente introduzem ao sistema uma grande quantidade de fontes de material fluorescente fazendo com que os comprimentos de onda observados não apresentem um padrão característico.

5.2.3.1.2 Fator 2 (F2)

Este fator responde por cerca de 14,23% das correlações obtidas nos cruzamentos das variáveis e descreve que as amostras apresentaram uma

correlação positiva entre comprimento de onda, clorofila *a* e silicato e negativa entre estas variáveis e os valores de PO_4 .

Os resultados desta pesquisa indicaram que quanto mais longo o comprimento de onda emitido, maiores foram as concentrações de silicato e clorofila *a*. A partir destes resultados pode-se inferir que quanto mais influência alóctone maiores serão as concentrações de clorofila *a* e silicato.

Quanto às correlações negativas entre comprimento de onda de emissão e fosfato (PO_4) os resultados mostraram que quanto menor a concentração de fosfato na água, maior o comprimento de onda emitido (mais aromático). Novamente deve-se salientar que a ZMT é uma zona que impõe aos materiais um longo tempo de residência. Isso faz com que a degradação seja processada e nutrientes sejam disponibilizados, tal condição pode acarretar em um aumento nas concentrações de fosfato. Isso por sua vez poderia levar à intensificação da produção de material autóctone (λ_{max} emissão mais curtos). Ou seja, as concentrações do nutriente durante o período de seca foram determinantes para que a emissão no período fosse predominantemente marinha e desta forma a correlação fosse apontada.

5.2.3.2 Segunda classe de fluoróforos ($\lambda_{\text{Ex}} 450\text{nm}$):

A Análise de Componentes Principais aplicada sobre a matriz de dados originais novamente representada por dois fatores corresponde a 52,3% da variância total dos dados. Na tabela 3 são apresentados apenas os autovetores das variáveis que possuem valor igual ou superior a 0,10. Estas 2 novas variáveis apresentam as correlações de dados descritas abaixo. Na tabela 4 (em anexo) estão descritos os valores de *Factor Scores* para cada amostra. Na figura 10 estão representados graficamente os vetores e *Factor Scores*.

Tabela 3. *Factor loadings* estimados através do rearranjo de 12 variáveis da matriz original dos dados. Os valores de comprimento de onda correspondem à emissão da segunda classe de fluoróforos (450nm). Apenas valores maiores ou iguais a 0,40 são apresentados. Os fatores estão numerados consecutivamente em ordem decrescente de explicação da variância.

Variável	Fator 1	Fator 2
% Variância	38,5	13,8
λ	0,181	-----
Salinidade	0,384	0,197
Clorofila	-0,267	0,118
Seston	-----	-0,117
OD	-0,115	0,359
POT	0,311	-----
NOT	0,372	-----
PO ₄	-----	-0,586
NO ₂	0,373	-----
NO ₃	0,402	-----
Si	-0,181	0,599
NH ₄	0,393	0,277

Como os objetivos deste estudo visam a caracterização e a contribuição da MOD no ecossistema de Paranaguá factor scores que não englobam relações diretas com comprimento de onda não serão discutidos.

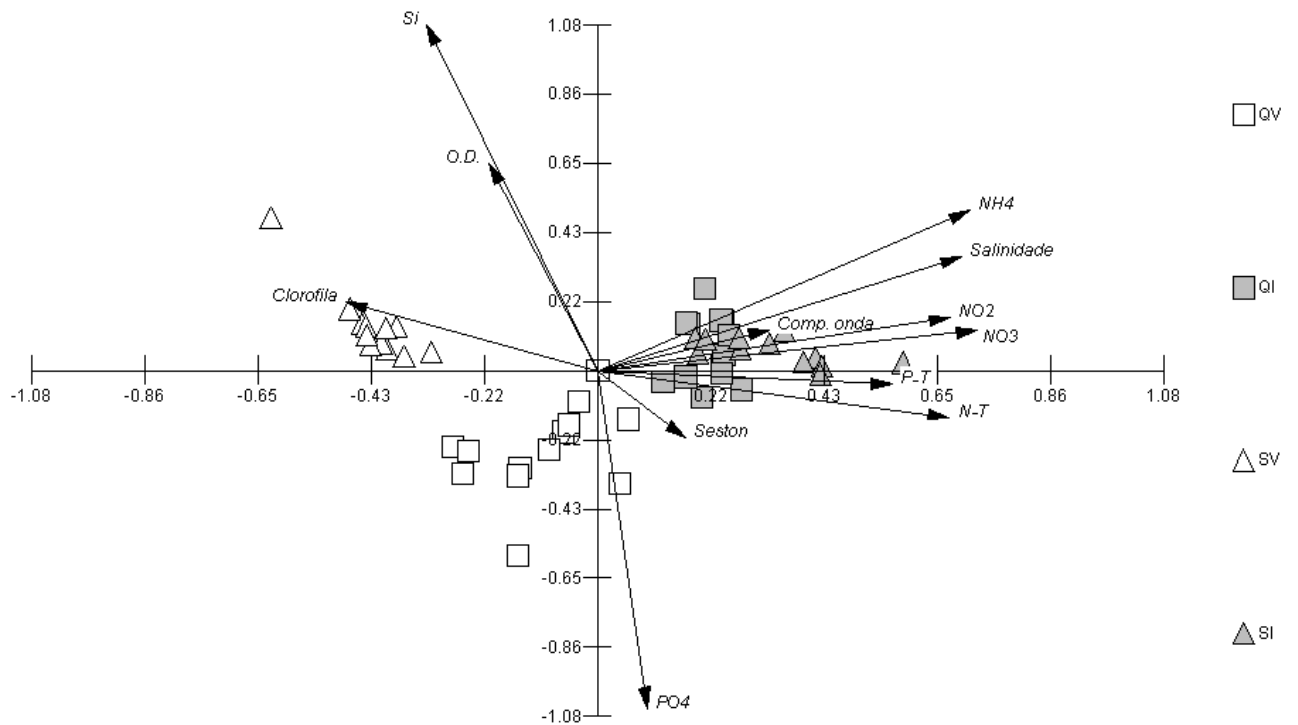


Figura 10. Autovetores e *Factor Scores* estimados através do rearranjo de 12 variáveis da matriz original dos dados representados em um sistema gráfico bidimensional. A variável comprimento de onda corresponde aos valores de emissão da primeira classe de fluoróforos (450nm). Escala do Fator: 1,80. QV = Quadratura Verão; QI = Quadratura Inverno; SV = Sizígia Verão; SI = Sizígia Inverno.

5.2.3.2.1 Fator 1 (F1):

Este fator responde por 38,5% das correlações obtidas no cruzamento de dados da matriz original. F1 apresenta uma correlação positiva entre os valores de comprimentos de onda de emissão, salinidade, P-Total, N-Total, NO₂, NO₃ e NH₄. A análise do fator também aponta uma correlação negativa entre estas variáveis e os resultados de clorofila *a*. Os valores de *factor score* estimados para cada amostra revelaram que estas relações são encontradas preferencialmente na estação seca (tabela 4).

Como verificado acima as assinaturas da MOD autóctone (estuário) e da MOD alóctone (rio) aparentemente não apresentaram uma diferença significativa. No entanto quando utilizada uma análise multivariada uma relação positiva entre comprimento de onda emitido e salinidade foi verificada. Como a alteração no comprimento de onda é pequena, a correlação entre salinidade e comprimento de onda só foi detectada durante o período de seca. Durante esta estação existe uma redução na quantidade de fontes adicionam de MOD em ambos os sistemas, o que facilitaria o traçamento da MOD e assim a ocorrência de uma correlação com a salinidade.

A presença da correlação positiva entre o comprimento de onda de emissão da MOD e a salinidade da Baía de Paranaguá relativos à segunda classe de fluoróforos (λ_{Ex} 450 nm) diferem dos resultados obtidos para a primeira classe (λ_{Ex} 350 nm). Nessa classe (segunda), foi verificado que há uma tendência de emissão em comprimentos de onda mais curtos pelo material alóctone, e como mencionado acima, o inverso para o material autóctone. Isto pode ser decorrente da agregação molecular e formação do material particulado na ZMT resultante da alteração de salinidade. Tal processo de floculação é, portanto, seletivo e resulta no deslocamento do máximo de emissão como observado. Portanto, os resultados obtidos para a segunda classe de fluoróforos não seguem o padrão de alteração do máximo de emissão de fluorescência típico comumente observado para a primeira classe. Tal padrão assume que a MOD dulcícola perde material aromático da 1ª classe, passando este da fase dissolvida para a particulada ao passar através da ZMT e, como consequência, tem-se o deslocamento do máximo de emissão para comprimentos de onda mais curtos.

Estudos anteriores indicam que existe uma ligação entre a produção de FDOM e a atividade bacteriana baseada em correlações positivas entre a fluorescência e a concentração de nutrientes (Chen & Bada., 1992, Hayase & Shinozuka., 1995; Coble *et al* 1998). Acredita-se que em períodos com maiores concentrações de nutrientes é provável que a degradação bacteriana aumente e produza mais material fluorescente marinho e que também degrade a FMOD alóctone mais facilmente.

Isso ocorre, pois as bactérias, ao fazerem a liberação dos nutrientes dissolvidos na coluna d'água, liberam pequenas moléculas cromofóricas que podem ser solubilizadas e então fazer parte da MOD fluorescente.

Geralmente espera-se uma correlação positiva entre o comprimento de onda e a clorofila *a*. No entanto, neste estudo verificou-se que os resultados relativos à segunda classe de fluoróforos apontaram uma relação inversa entre estas duas variáveis. Misic *et al.* (2006) sugere que tal correlação mostra que a formação de compostos húmicos fluorescentes nesta situação é creditada aos organismos fitoplanctônicos e que o *input* via rio talvez não seja suficiente para alterar a MOD do estuário. Ou seja, os compostos fluorescentes relativos à segunda classe, apesar de demonstrarem correlações na PCA novamente demonstram não possuir um comportamento conservativo, sugerindo que o efeito das condições físico-químicas do estuário sobre a MOD autóctone seja maior do que a contribuição da MOD dulcícola sobre a marinha na ZMT.

5.2.3.2.2 Fator 2 (F2)

Este fator responde por cerca de 13,8% das correlações obtidas nos cruzamentos das variáveis e não engloba o comprimento de onda emitido em suas correlações, portanto não será discutido.

5.2.3.3 Análise de similaridade (Cluster) e MDS para os comprimentos de onda de emissão

5.2.3.3.1 Primeira classe de fluoróforos (λ_{Ex} 350nm):

Os agrupamentos dos comprimentos de onda emitidos e análise de MDS para a primeira classe de fluoróforos seguem uma tendência similar à sua separação por amostragem (figura 11 em anexo e figura 12, respectivamente).

Tal fato provavelmente ocorre, pois, nestas amostragens as características físico-químicas da água não variaram suficientemente para alterar os comprimentos de onda de máxima emissão.

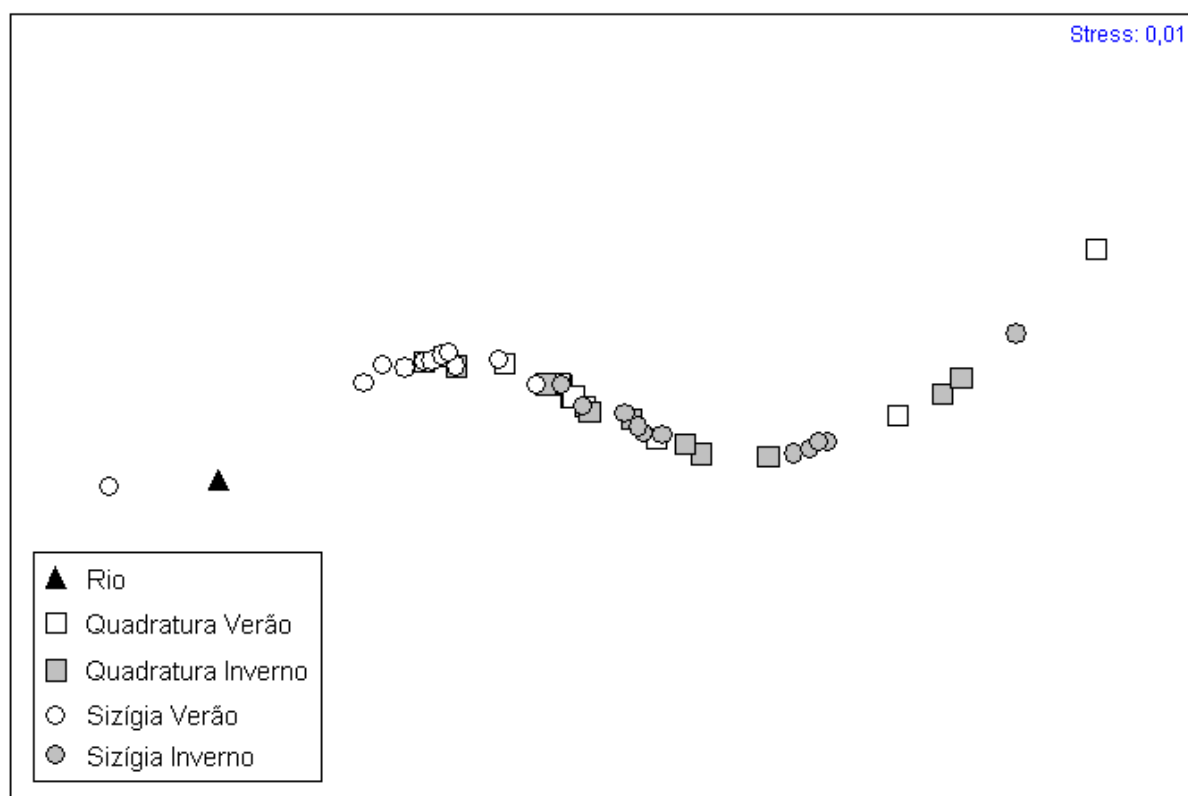


Figura 11: Escalonamento multidimensional de dados de comprimento de onda de emissão de 350nm.

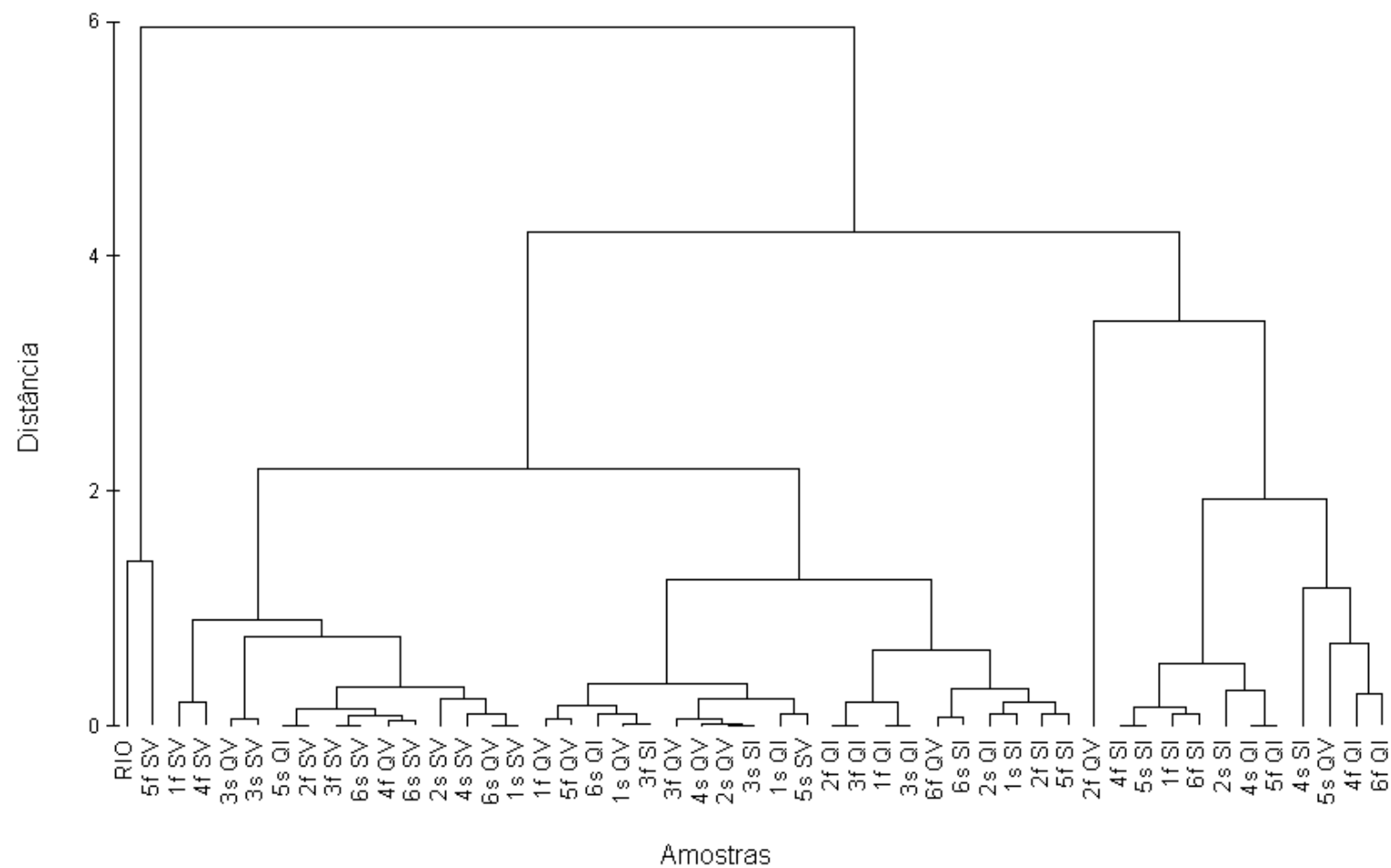


Figura 12. Análise hierárquica de agrupamento dos valores de emissão da primeira classe de fluoróforos (350nm) de todas as amostras. A letra 's' corresponde às amostras de superfície e 'f' corresponde às amostras de fundo. SV= sizígia verão, QV= quadratura verão, SI= sizígia inverno, QI= quadratura inverno

5.2.3.3.2 Segunda classe de fluoróforos (450 nm):

Os agrupamentos dos comprimentos de onda emitidos e análise MDS para a segunda classe de fluoróforos concordam com os agrupamentos obtidos na primeira classe e seguem uma tendência similar à sua separação por amostragem, ou seja, uma sazonalidade (figura 13 em anexo e figura 14, respectivamente). É provável que nesse caso, as características físico-químicas da água não tenham variado suficientemente para alterar os comprimentos de onda de emissão.

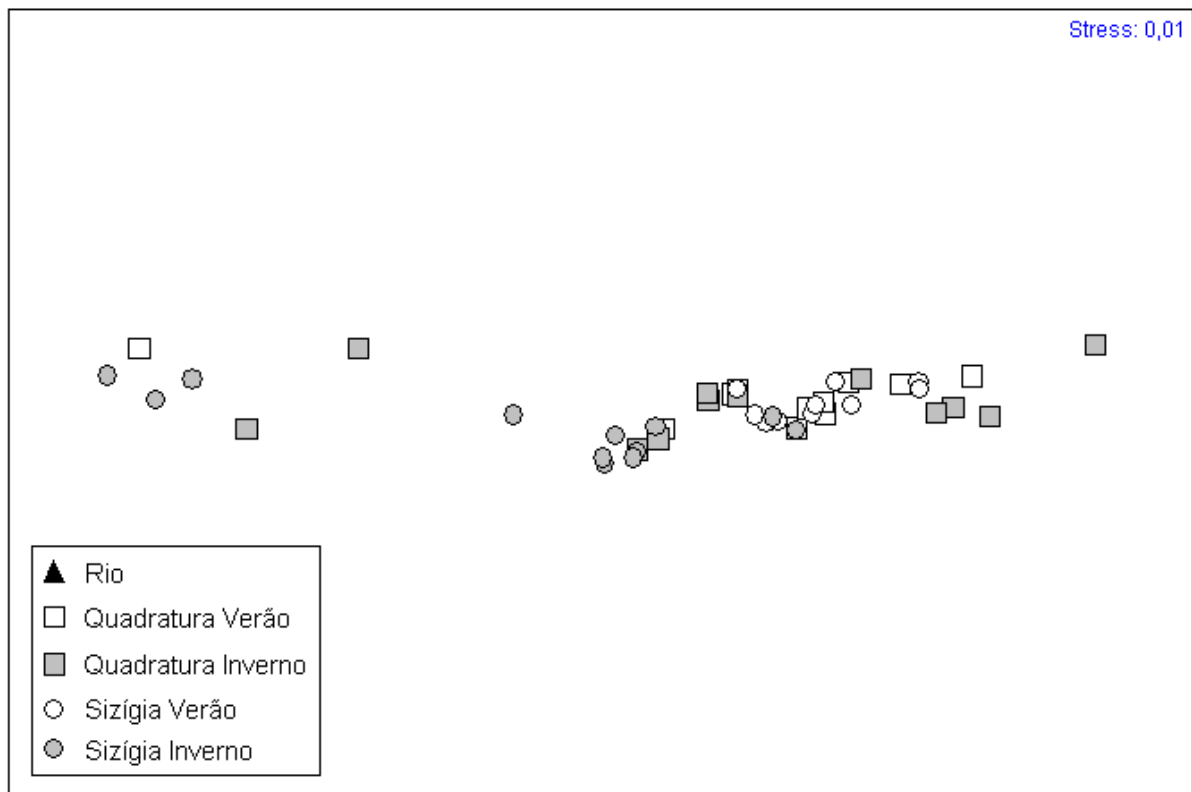


Figura 13: Escalonamento multidimensional de dados de comprimento de onda de emissão de 450nm.

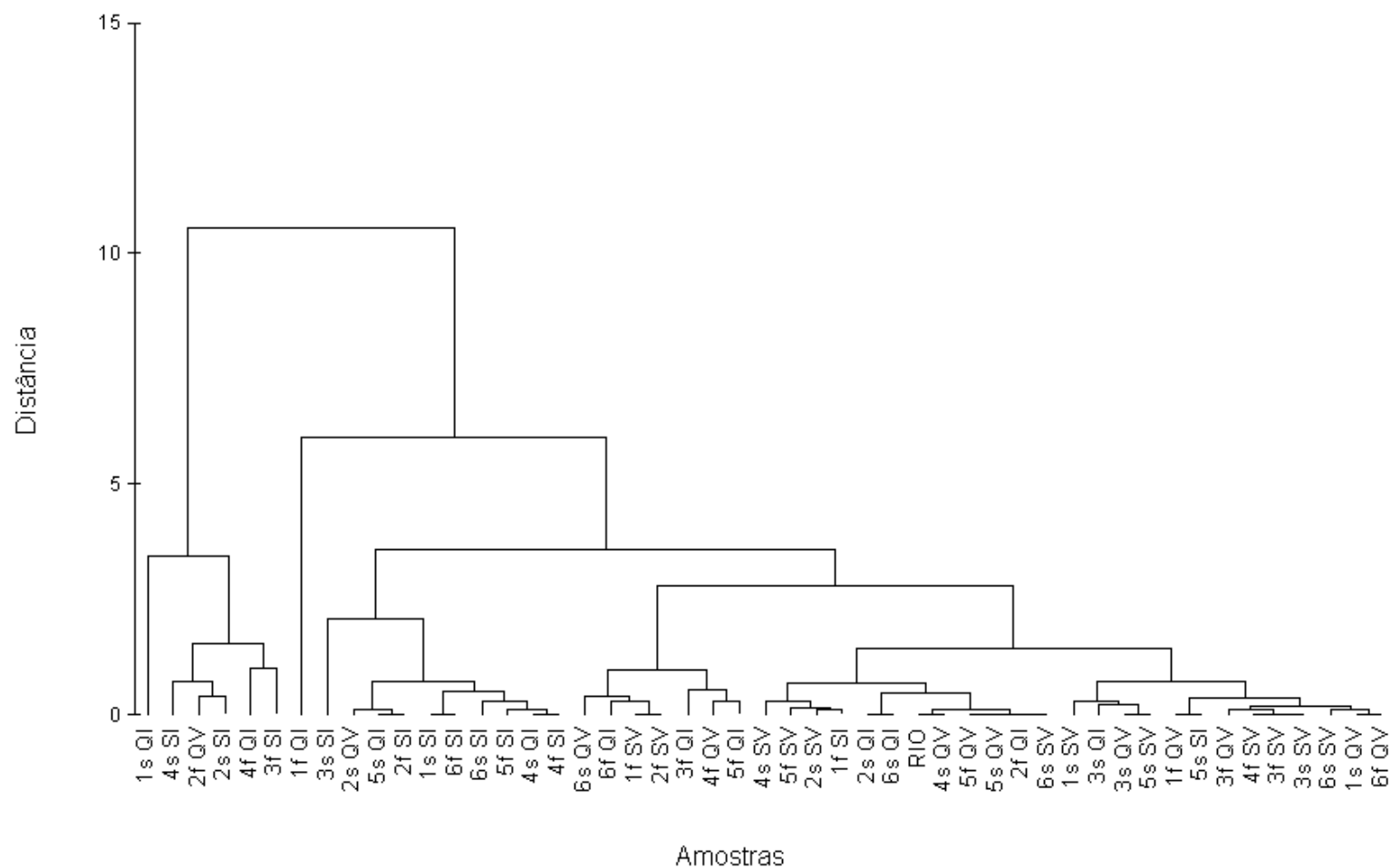


Figura 14. Análise hierárquica de agrupamento dos valores de emissão da primeira classe de fluoróforos (450nm) de todas as amostras. A letra 's' corresponde às amostras de superfície e 'f' corresponde às amostras de fundo. SV= sizígia verão, QV= quadratura verão, SI= sizígia inverno, QI= quadratura inverno.

5.3 Excitação convencional

Os espectros de excitação convencional (simples) obtidos neste estudo foram incapazes de apontar diferenças estruturais entre as amostras alóctones e autóctones. Resultado similar foi obtido por Lombardi & Jardim (1999).

5.4 Excitação Sincronizada

A análise através da excitação sincronizada (figuras 15 e 16) mostrou que a composição da FMOD da Baía de Paranaguá é semelhante à MOD estuarina descrita anteriormente por outros autores (De Souza-Sierra *et al.*, 1994; Coble, 1996; Lombardi & Jardim, 1999; Peuravouri *et al.*, 2002; Blough e Del Vecchio, 2002; Jaffe' *et al.*, 2004).

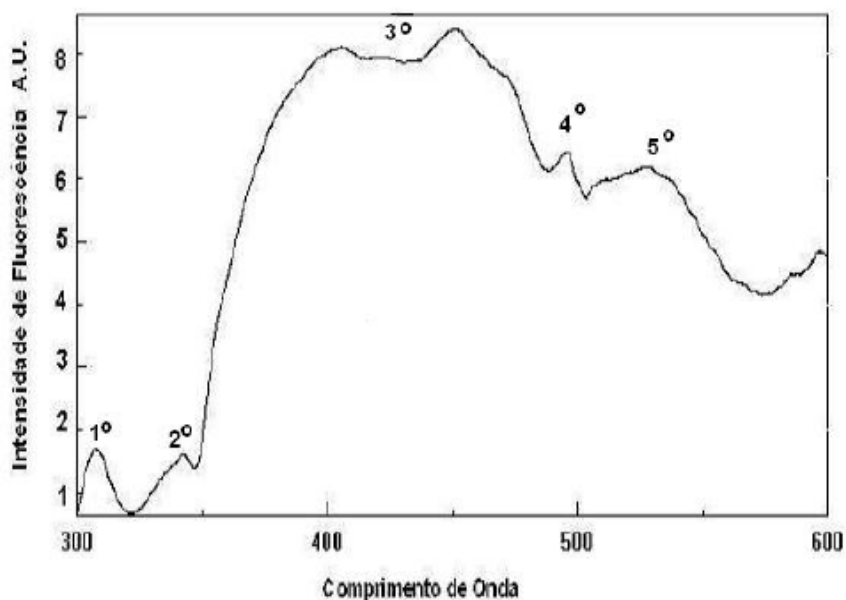


Figura 15. Exemplo de um espectro de excitação sincronizada obtido a partir da excitação da MOD dulcícola ($\Delta = 18$ nm).

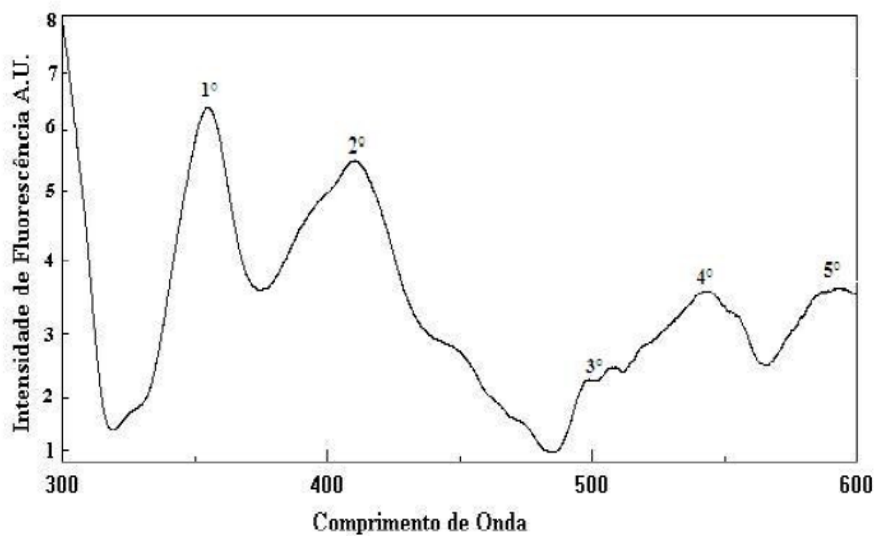


Figura 16. Exemplo de um espectro de excitação sincronizada obtido a partir da excitação da MOD estuarina ($\Delta = 18$ nm).

Os picos de emissão observados nos espectros de excitação sincronizada das amostras da Baía de Paranaguá foram relacionados aos fluoróforos correspondentes seguindo-se a identificação descrita em trabalhos anteriores (tabela 5).

Determinados fluoróforos da MOD estuarina na Baía de Paranaguá apresentaram variação em função da maré, da profundidade e da sazonalidade. A assinatura de cada amostra, ou seja, os componentes formadores da FDOM está descrita nas tabelas 6 e 7 (em anexo).

Tabela 5. Principais componentes fluorescentes encontrados em águas naturais.

Fluoróforo	λ_{em}	Referência
Material recém-formado I	307 \pm 3nm	Mopper & Schultz, 1993; de Souza-Sierra <i>et al.</i> , 1997; Del Castillo, 1998; Del Castillo <i>et al.</i> , 1999, 2000
Proteínas	310 e 350nm	Mopper & Schultz, 1993; De Souza-Sierra <i>et al.</i> , 1997; Del Castillo, 1998; Del Castillo <i>et al.</i> , 2000
Compostos de 3 ou 4 anéis aromáticos	329 \pm 3nm e 373 \pm 3nm	Lombardi & Jardim, 1999; Peuravuori <i>et al.</i> , 2002
Naftaleno e seus conjugados	348 \pm 3nm	Peuravuori <i>et al.</i> , 2002
Ácido fúlvico terrestre	360 \pm 3nm	Ghosh & Schnitzer, 1980 <i>apud</i> Lombardi, 1995
Composto de 5 anéis aromáticos	381 \pm 3 nm e 418 \pm 3nm	Lombardi & Jardim, 1999; Peuravuori <i>et al.</i> , 2002
SH marinha associada ao fitoplâncton	380 a 420 nm	Coble <i>et al.</i> , 1998; Parlanti <i>et al.</i> 2000; Stedmon <i>et al.</i> , 2003
Ácidos húmicos e similares	420 a 480 nm	Mopper & Schultz, 1993; De Souza-Sierra <i>et al.</i> , 1994; Determann <i>et al.</i> , 1994; Coble, 1996; Parlanti <i>et al.</i> , 2000; Stedmon <i>et al.</i> , 2003
Compostos aromáticos de 7 anéis benzênicos	440 \pm 3nm e 478 nm \pm 3nm	Lombardi & Jardim, 1999; Peuravuori <i>et al.</i> , 2002
Material recém-formado II	500 \pm 3nm	Lombardi & Jardim, 1999
Ácido fúlvico (solo)	509 \pm 3nm	Coble, 1996; Blough & Del Vecchio, 2002; Stedmon <i>et al.</i> , 2003
Efluente doméstico	512 a 531nm	Galapate <i>et al.</i> , 1998
Ficoeritrina	584 \pm 3nm	Lombardi & Jardim, 1999
Não classificados	545 (\pm 3nm), 566 (\pm 3nm) e 595 (\pm 3nm)	Jaffé <i>et al.</i> , 2003

5.4.1 Materiais proteicos recém formados (λ_{em} = 307 \pm 3nm)

Sabe-se que a fluorescência de materiais protéicos é emitida em comprimentos de onda mais curtos (Mopper & Schultz, 1993; de Souza-Sierra *et al.*, 1997; Del Castillo,

1998; Del Castillo *et al.*, 1999, 2000). Esta característica, associada à sua presença mais frequente na estação seca, sugere que este fluoróforo relaciona-se a materiais proteicos recém formados originados de manguezais e marismas. Este fluoróforo foi verificado no espectro de excitação sincronizada da MOD alóctone, sugerindo que materiais proteicos recém formados podem ser oriundos de ambientes continentais, no caso, o Rio Nhundiaquara. Na ZMT da Baía de Paranaguá este fluoróforo foi encontrado apenas em uma amostra durante o período chuvoso na MOD superficial da maré de quadratura. Portanto, não foi regularmente detectado durante esta estação. Durante o período seco, os materiais recém formados de origem proteica foram frequentemente observados nos espectros, especialmente nas águas de fundo. Nas amostras superficiais este fluoróforo é apenas verificado em altas salinidades, e assim mesmo, sem muita frequência. Tal fluoróforo também é predominante em condições de maré astronômica de sizígia (MS).

A baía de Paranaguá é margeada por manguezais, os quais constituem uma importante fonte de detritos para o sistema (Rebello & Brandini, 1990). Lana *et al.* (2001) citam que no estuário de Paranaguá, durante a estação seca, a maior contribuição de MOD recém produzida são os detritos dos manguezais e também dos alagados. A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, acredita-se que os compostos relativos a esta banda de fluorescência pertençam a tais ambientes, uma vez que foram predominantemente registrados na estação seca, assim como em eventos de MS, quando as águas marinhas entram em maior contato com ambientes mais internos do estuário. Considerando que sua principal zona de localização são as águas de fundo, supõe-se que estes materiais possam ter origem heterotrófica. Tal suposição é corroborada por dados da literatura que confirmam que as comunidades microbianas de fundo são responsáveis por transformar os componentes não cromofóricos em materiais fluorescentes (Nelson *et al.*, 1998; Rochelle-Newall & Fisher, 2002 a,b; Callahan *et al.*, 2004), disponibilizando desta forma material ao sistema.

5.4.2 Material recém formado de origem biológica ($\lambda_{em}= 500 \pm 3nm$)

Lombardi & Jardim (1999), a partir do uso da mesma diferença entre os comprimentos de onda de emissão e excitação ($\delta=18$ nm), relatam este mesmo pico para as amostras de água doce e salgada, e o associam à presença de material recém-formado de origem biológica.

Ao contrário do que foi verificado para o pico descrito anteriormente (307 nm), também relativo a materiais recentes, este pico (500 nm) ocorre preferencialmente durante a estação chuvosa. Tais substâncias foram encontradas na MOD do Rio Nhundiaquara, além de serem detectadas na ZMT, o que sugere que a produtividade alóctone pode ter contribuído para a alta ocorrência deste pico nas amostragens de verão. Isso é explicado pela maior contribuição fluvial e de drenagem continental ao estuário, resultado da maior precipitação neste período. Além disso, a produtividade primária é incrementada devido ao maior aporte de nutrientes de origem continental e devido ao aumento de temperatura. Segundo Lana *et al.* (2000), na estação chuvosa, a MOD recente encontrada no estuário é derivada da produção fitoplanctônica e da contribuição do microbentos.

A produção destes compostos é menor durante o período seco. A maior ocorrência do fluoróforo nesta estação é na maré de quadratura (MQ) e nas amostras de fundo, o que indica que este material recém-formado é produzido principalmente por heterotrofia. Mesmo que na ZMT exista uma baixa produtividade primária em relação a outros locais no estuário devido à limitada penetração da luz (Herman & Heip, 1999), uma alta taxa de mortalidade planctônica provê MOD fresca nesta zona, o que termina também por incentivar o crescimento bacteriano (Goosen *et al.*, 1999; Muylaert & Sabbe, 1999). Na Baía de Paranaguá, somada à degradação de material fitoplanctônico, ocorre também a degradação bacteriana de material alóctone derivado de manguezais e marismas, fazendo com que a produção de novo material fluorescente via heterotrofia seja intensificada durante o período seco (Klinkhammer *et al.*, 2000).

5.4.3 Proteínas: (λ_{em} = 310 a 350 nm)

A emissão entre 310 e 350 nm foi descrita inicialmente por Coble (1996) e posteriormente utilizada por diversos autores (Mopper & Schultz, 1993; De Souza-Sierra *et al.*, 1997; Del Castillo, 1998; Del Castillo *et al.*, 2000) como referência a materiais proteínáceos. Tais materiais estiveram presentes em quase todas as campanhas de amostragem e são comuns tanto à MOD estuarina como à MOD de água doce. Este fluoróforo também esteve presente em todas as amostragens efetuadas na MS (período seco, chuvoso, superfície e fundo). As diferenças de ocorrência se restringiram à maré de quadratura.

A ocorrência da banda λ_{em} = 310 a 350 nm nas amostras é indicativa da presença de material derivado de fontes alóctones, mas também autóctones contribuindo com componentes proteínáceos que posteriormente integram a MOD estuarina (De Souza-Sierra *et al.*, 1994; Ferrari & Mingazzini, 1995; Lu *et al.*, 2003). Segundo Peuravuori *et al.* (2002), as proteínas que fluorescem nesta banda do espectro geralmente são compostas por aminoácidos aromáticos e outros ácidos voláteis.

Apesar de pertencer a ambientes marinhos e continentais, como verificado neste estudo, este fluoróforo é predominantemente encontrado em águas marinhas (De Souza-Sierra *et al.*, 1994; Kowalczyk *et al.*, 2003), uma vez que estas são zonas típicas de enriquecimento biológico (Baker & Spencer, 2004). Nestas águas sua produção é associada à produtividade primária microbiana (Mopper & Schultz, 1993; De Souza-Sierra *et al.*, 1994; Lombardi & Jardim, 1999) e à degradação de material proveniente de manguezais, marismas e do perifiton (Lu & Jaffé, 2001). Atualmente acredita-se que as proteínas sejam provenientes da liberação de componentes celulares durante o crescimento celular fitoplanctônico, além da pastagem zooplanctônica (Baker & Spencer, 2004). Desta forma sua ocorrência frequente nas amostras de água do estuário de Paranaguá poderia ser esperada.

O complexo estuarino de Paranaguá apresenta uma grande diversidade de ambientes, incluindo planícies de maré, baixios, ilhas, costões rochosos, marismas, rios de maré (gamboas) e manguezais (Lana, 1986). Estas fontes acrescentam uma grande

quantidade de material orgânico ao sistema, que, ao encontrar as águas do estuário, é metabolizado e convertido nos materiais proteínaceos encontrados nas amostras deste estudo. As ausências de proteínaceos verificadas durante a maré de quadratura, de menor amplitude, são provavelmente devido ao menor contato das águas do estuário com estas fontes contribuidoras (Lu *et al.*, 2003; Jaffé *et al.*, 2004).

Além das fontes naturais, o enriquecimento orgânico de origem antrópica pode estar também contribuindo com a alta ocorrência de proteínaceos no sistema. Baker & Spencer (2004) relatam uma maior ocorrência de proteínas em regiões com influência antrópica. Desta forma, as áreas de ocupação antrópica nas margens do CEP, através da produção de efluentes domésticos e do despejo sem controle de resíduos domésticos, podem também ser fonte de proteínaceos no estuário.

Além desta diversidade de contribuidores de proteínaceos, a grande abundância deste material nas amostras também pode ser sustentada, pois na ZMT partículas orgânicas são submetidas a processos físico-químicos, depositadas ao fundo e então ressuspensas pela força da maré. Este processo disponibiliza grande quantidade de material sustentando uma atividade biológica intensa (Herman & Heip, 1999).

A abundância de compostos proteínaceos nas camadas superficiais está relacionada aos altos índices de atividades biológicas nas zonas fóticas (Mopper & Schultz, 1993, Parlanti *et al.*, 2000). Desta forma, a grande frequência de proteínaceos nas amostragens realizadas neste estudo sugere uma alta produção fitoplanctônica na camada superficial do estuário. Por outro lado, estes compostos também foram frequentemente encontrados em camadas mais profundas; nesta zona, a atividade heterotrófica do fundo pode ser a maior via de liberação de moléculas (Mayer *et al.*, 1999, Chen *et al.*, 2003). Sendo assim, especula-se que, durante as amostragens, havia uma grande produtividade heterotrófica no ambiente. Como no CEP os materiais proteínaceos foram encontrados na superfície e no fundo, tanto na estação seca quanto na chuvosa, acredita-se que a produtividade primária neste estuário seja sustentada por diferentes vias (autotrófica e heterotrófica) e estas vias são constantes sazonalmente.

5.4.4 Compostos de 3 ou 4 anéis aromáticos ($\lambda_{em}=329 \pm 3 \text{ nm}$ e $373 \pm 3 \text{ nm}$)

Estes dois picos de emissão foram descritos anteriormente por Lombardi & Jardim (1999) e Peuravuori *et al.* (2002), a partir do uso da mesma diferença entre os comprimentos de onda de emissão e excitação ($\delta=18 \text{ nm}$) no espectro de excitação sincronizada.

Ácidos húmicos marinhos possuem uma menor concentração de carbono aromático em relação às substâncias húmicas de ambientes de água doce (Benner, 1998) e, portanto as amostras marinhas tendem a fluorescer em comprimentos de onda mais curtos do que as de origem continental. De fato, neste estudo, não foi detectada fluorescência relativa a compostos com 3 ou 4 anéis aromáticos nas amostras de origem continental.

As análises das amostras demonstraram que este composto é predominantemente encontrado em situações de maré de quadratura, sendo registrada apenas uma ocorrência em maré de sizígia. Sua presença é mais frequente durante a estação chuvosa, podendo ser encontrado tanto no fundo como na superfície, o que sugere que sua distribuição seja constante ao longo da coluna d'água.

5.4.5 Naftaleno e seus conjugados ($\lambda_{em}=348 \pm 3 \text{ nm}$)

Peuravuori *et al.* (2002) descrevem este pico em seu estudo e afirmam ser relativo à presença de naftaleno e seus conjugados na amostra. Neste estudo, o fluoróforo ($\lambda_{em}=348 \pm 3 \text{ nm}$) foi encontrado preferencialmente durante o período chuvoso, podendo tanto estar relacionado à maré de sizígia (MS) quanto à de quadratura (MQ). Durante o período seco os espectros de excitação sincronizada demonstram que o naftaleno e seus conjugados são verificados exclusivamente na MS, ou seja, em marés de maior amplitude, o que indica uma maior influência terrestre. Outra característica verificada neste estudo é que em baixas salinidades o composto esteve geralmente presente nas amostras superficiais, enquanto que em altas salinidades sua ocorrência é

maior nas amostras de fundo. O naftaleno foi também verificado nas amostras provenientes do Rio Nhundiaquara, ou seja, nos espectros de excitação sincronizada representativos da MOD alóctone.

O naftaleno possui em sua estrutura 2 ou 3 anéis aromáticos, sendo desta forma uma substância de baixa massa molecular. Sua presença no ambiente pode tanto ser derivada de fontes naturais, como ter origem antrópica. Em fontes naturais este grupo de compostos é sintetizado e liberado por bactérias, fungos e outros organismos aquáticos. Fontes antrópicas significativas destes compostos incluem efluentes industriais e esgotos domésticos, incineração de lixo, derramamentos de petróleo (óleo cru contém de 0,2 a 7% de PAHs), produção de asfalto, óleo creosoto e queima de combustíveis fósseis (Fúlfaro *et al.*, 2001). No CEP a zona de máxima turbidez localiza-se próxima ao porto de Paranaguá, local susceptível a contaminações, e a MOD alóctone também sofre influências antropogênicas. Portanto, neste estuário, tanto fontes naturais quanto antrópicas acrescentam este composto ao sistema. No entanto, sabe-se que a maior parte do naftaleno presente nos ambientes aquáticos seja acrescentada ao sistema por atividades antrópicas (Fúlfaro *et al.*, 2001), resultado de lixiviação do solo urbano, das terras agrícolas, e das águas subterrâneas. Em períodos chuvosos estas deposições são acentuadas. Tal fato foi observado no CEP, pois nesta zona a maior frequência de naftaleno é obtida em situações de maior influência continental (período chuvoso). Outra possível fonte deste contaminante detectado neste estudo poderia ser originário do petróleo relacionado à ruptura do oleoduto Araucária-Paranaguá da Petrobrás, em Fevereiro de 2001. Neste incidente, segundo a companhia, aproximadamente 50 mil litros de petróleo bruto foram vertidos nos rios Sagrado, Meio, Neves e Nhundiaquara (<http://petrobrasri.infoinvest.com.br/>). Ainda que a empresa negasse, a imprensa à época noticiou que técnicos do Instituto Ambiental do Paraná (IAP) detectaram visualmente a presença deste óleo nas águas da baía de Paranaguá e manguezais que margeiam a baía (Folha do Paraná, 19/02/2001). Uma vez que se trata de uma substância orgânica persistente, é possível que o naftaleno detectado no presente estudo seja remanescente do petróleo vazado relativo a este acidente.

Em amostras de baixas salinidades este material esteve presente principalmente na camada superficial, o que indica origem alóctone, uma vez que foi encontrado em

situações de maior aporte de águas continentais. Em amostras de maior salinidade, ou seja, de maior influência marinha, a maior ocorrência de naftaleno e seus conjugados foi obtida nas amostras de fundo, o que pode ser decorrente da afinidade desses compostos pelo sedimento e material particulado.

5.4.6 Ácido fúlvico terrestre ($\lambda_{em}=360 \pm 3nm$)

Independentemente da origem do ácido fúlvico investigado, todos exibem uma banda característica próxima de 360 nm (Ghosh & Schnitzer, 1980; *apud* Lombardi, 1995). Esta classe de fluoróforos, que pode caracterizar o ácido fúlvico não foi verificada nos espectros de MOD do Rio Nhundiaquara, sugerindo que seu aporte ao estuário seja a partir de outra fonte. Nas amostras coletadas na ZMT, este fluoróforo foi mais freqüente no período de seca, principalmente em períodos de maré de sizígia; nesta fase sua distribuição é controlada pela salinidade: durante baixas salinidades, este pico é encontrado apenas na camada superficial, enquanto que em altas salinidades, sua ocorrência é restrita à camada de fundo. Já durante o período chuvoso, sua distribuição na coluna d'água foi restrita à camada superficial, tanto em maré de sizígia quanto de quadratura.

Os ácidos fúlvicos continentais são em sua maioria derivados de plantas e resíduos de árvores que contém uma maior concentração de componentes orgânicos fenólicos e ligno-derivados (Chen *et al.*, 2003). A MOD trazida dos manguezais e alagados possuem emissão característica destes componentes de alta massa molecular (taninos). Desta forma, neste trabalho, como não foi observado esse tipo de ácido fúlvico derivado de vegetais superiores nas amostras do Rio Nhundiaquara, conclui-se que a fonte deste material para o CEP sejam os manguezais e os alagados.

5.4.7 Compostos de 5 anéis aromáticos ($\lambda_{em}= 381 \pm 3 \text{ nm}$ e $418 \pm 3 \text{ nm}$)

Estes dois picos de emissão foram relatados anteriormente a partir do uso da mesma diferença entre os comprimentos de onda de emissão e excitação ($\delta=18 \text{ nm}$) nos espectros de excitação sincronizada (Lombardi e Jardim, 1999, Peuravuori *et al.*, 2002). Tais picos estão relacionados a substâncias que apresentam em sua composição química 5 anéis aromáticos.

Estas substâncias fluorescentes não foram verificadas na MOD alóctone. Nas amostras da ZMT, sua presença é acentuada no período chuvoso. Durante este período sua distribuição na coluna d'água não possuiu padrão definido, sendo verificado tanto na superfície quanto no fundo. Já na estação seca sua distribuição foi controlada pela salinidade: em altas salinidades, os compostos de 5 anéis aromáticos foram apenas encontrados nas águas de fundo; nas baixas salinidades, foram exclusivos de águas superficiais. Durante o período chuvoso sua principal ocorrência foi em situações de maré de sizígia, enquanto que no período seco, este composto, encontrado em apenas uma amostra de MS, passou a ser dominante na MQ.

5.4.8 Material associado à produção fitoplanctônica ($\lambda_{em}= 380$ a 420 nm)

Esta banda foi amplamente descrita a partir de espectros de excitação simples (Coble *et al.*, 1998; Parlanti *et al.* 2000; Stedmon *et al.*, 2003). Em excitação sincronizada, foi utilizada por Parlanti *et al.* (2000) com uma diferença entre os comprimentos de onda de emissão e excitação de 30nm. Sua origem é exclusivamente marinha e provavelmente é relacionada com a produtividade primária fitoplanctônica (Parlanti *et al.*, 2000). Este fluoróforo não foi detectado nas amostras representativas da MOD alóctone, o que poderia ser esperado, pois a produção fitoplanctônica em águas correntes é, em geral, pequena. A presença de material associado à produção fitoplanctônica foi constante nos períodos seco e chuvoso nas águas da ZMT. Sua

ocorrência no período chuvoso, fase de maior aporte de nutrientes e também de temperaturas mais altas, não apresenta padrão, uma vez que esteve igualmente presente na coluna d'água e também nas duas marés astronômicas (MQ e MS). Durante o período seco sua ocorrência foi mais significativa na MOD da MS, em situações de baixa salinidade e exclusivamente nas amostras de superfície.

A literatura apresenta duas explicações para a ocorrência deste material no sistema: primeiramente, ele seria derivado da queda do comprimento de onda do fluoróforo relativo aos ácidos húmicos e similares para amostras estuarinas. Essa tendência de emissão em comprimentos de onda mais curtos é característica em estuários, e é indicativa da perda dos comprimentos de onda mais longos, além da conseqüente queda da sua aromaticidade (Coble, 1996). Quando este fluoróforo passa a emitir comprimentos de onda curtos, ele deixa de ser relacionado a ácidos húmicos e similares para ser classificado como material associado à produção fitoplanctônica (M), ou seja, um fluoróforo de ocorrência exclusivamente marinha (Baker & Spencer, 2004). Segundo Baker & Spencer (2004) tal redução na aromaticidade geralmente é causada por processos degradativos como, por exemplo, a fotodegradação e a biodegradação.

Esta hipótese sugere que a grande frequência de ocorrência deste fluoróforo nas amostras de água da ZMT são derivadas da intensa fotodegradação e biodegradação dos fluoróforos na Baía, fato também constatado a partir dos espectros de emissão da primeira classe de fluoróforos apresentados por este estudo.

A segunda hipótese é que o fluoróforo M é de origem marinha e caracteriza a atividade fitoplanctônica recente (Coble *et al.*, 1998).

Quando há crescimento do fitoplâncton e este é pastado pelo zooplâncton, uma nova SH com ácidos húmicos é formada, esta SH emite em comprimentos de onda mais curtos que os outros húmicos e é, segundo Coble *et al.*, (1998) determinada como M (Material associado à produção fitoplanctônica). A maioria das amostras marinhas deste estudo apresentaram o pico M, sugerindo que a produtividade primária fitoplanctônica é alta na ZMT.

Como constatado em outros estudos, neste trabalho a presença do fluoróforo M esteve associada à banda correspondente a materiais proteínaceos (310 – 350 nm) sugerindo uma atividade biológica recente. Estes dois fluoróforos foram observados

juntos como se um complementasse o outro em várias situações (Mopper & Schultz, 1993; Determann *et al.*, 1994, 1998; Seritti *et al.*, 1994).

As altas taxas de produção primária, freqüentemente registradas para estuários, estão diretamente relacionadas ao aumento da concentração de nutrientes inorgânicos dissolvidos, podendo estes serem de origem natural ou antrópica (Boynton *et al.*, 1982; Mallin *et al.*, 1993; Abreu *et al.*, 1995). Como já citado anteriormente neste estudo, o estuário de Paranaguá possui grande diversidade de ambientes que, ao lado da atividade antrópica no CEP fazem com que o aporte de nutrientes seja elevado e sustentem uma alta produção primária.

5.4.9 Ácidos húmicos e similares ($\lambda_{em}= 420$ a 480 nm)

Este pico foi descrito anteriormente a partir de espectros de excitação simples (Mopper & Schultz, 1993; De Souza-Sierra *et al.*, 1994; Determann *et al.*, 1994; Coble 1996; Parlanti *et al.*, 2000; Stedmon *et al.*, 2003). Sua presença é comum em ambos os ambientes, sendo que quanto mais complexa for a molécula, ou seja, mais próximo de 480 nm, maior é a possibilidade de sua origem ser terrestre (Stedmon *et al.*, 2003).

Neste trabalho este fluoróforo foi detectado em ambos os ambientes (continental e marinho). Foi também constatada uma maior frequência de componentes que apresentavam comprimentos de onda de emissão mais longos (“red-shifted”). Estes picos “red-shifted” são característicos de fluoróforos com sistemas de π -eletrons mais extensos ou com mais grupos funcionais (Baker & Spencer, 2004). Sendo assim conclui-se que a grande frequência de comprimentos de onda mais longos caracterizam novamente a forte influência alóctone no estuário.

Porém sabe-se que estas SH que emitem em comprimentos de onda mais longos não são apenas adicionadas ao CEP por via fluvial, mas também por outras fontes potenciais geradoras de uma fluorescência deslocada para comprimentos de onda mais longos, tais como águas dos lençóis freáticos, a contribuição de manguezais e marismas, e a própria produção na coluna d’água (Klinkhammer *et al.*, 2000).

5.4.10 Compostos com 7 anéis aromáticos ($\lambda_{em}= 440 \pm 3nm$ e $478 nm \pm 3nm$)

Estes dois picos de emissão foram relatados anteriormente em espectros de excitação sincronizada ($\delta=18$ nm) (Lombardi e Jardim, 1999; Peuravuori *et al.*, 2002) e estão associados a comprimentos de onda de emissão de substâncias com 7 anéis aromáticos em sua composição química. Os compostos terrestres possuem uma maior concentração de estruturas aromáticas policondensadas (Chen *et al.*, 2003). Desta forma acredita-se que estes compostos tenham origem continental, uma vez que neste estudo sua ocorrência foi detectada na amostra de MOD alóctone.

Este fluoróforo foi encontrado em toda a coluna d'água, preferencialmente no período chuvoso, ou seja, é característico de grande aporte de MOD alóctone. Na bacia do rio Nhundiaquara a flutuação da vazão aumenta com o aumento da precipitação, o que é esperado (ordinário) no processo chuva-vazão, acarretando um maior aporte de material terrestre ao sistema.

Sua presença durante a estação chuvosa é pronunciada em condições de maré astronômica de sizígia, maré que possui maior contato com fontes continentais. Durante o período seco, este maior aporte via sizígia deixa de ser representativo e o composto foi encontrado também durante a maré de quadratura.

5.4.11 Ácido fúlvico (solo) ($\lambda_{em}= 509 \pm 3nm$)

Este pico foi descrito anteriormente a partir de espectros de excitação simples (Coble 1996, Blough & Del Vecchio, 2002, Stedmon *et al.*, 2003) e sua ocorrência é descrita apenas em situações de influência com substratos terrestres.

Neste estudo, este fluoróforo esteve presente em duas amostragens, durante o período chuvoso. Como o mesmo não foi detectado na amostra de MOD alóctone, acredita-se que este fluoróforo chegou ao estuário via lixiviação, uma vez que aportes médios de água doce provenientes da drenagem continental são superiores durante o verão (período chuvas) em função do maior excedente hídrico e também pelo potencial

de erosividade pela chuva observados neste período em relação ao inverno (período seco) (Mantovanelli, 2000).

Durante o período seco esse pico foi detectado apenas em um espectro de excitação sincronizada da MOD da ZMT.

5.4.12 Efluente doméstico ($\lambda_{em}= 512$ a 531 nm)

Galapate *et al.*, (1998) compararam diferentes espectros de excitação sincronizada com o objetivo de detectar a banda de emissão característica dos efluentes domésticos e concluíram que sua localização no espectro está entre 512 e 531 nm. Estes autores sugerem que esta análise pode ser muito eficaz na determinação da qualidade de água dos corpos d'água, uma vez que é um método rápido e preciso.

As análises efetuadas através de excitação sincronizada na MOD do Rio Nhundiaquara detectaram um pico de emissão relacionado a esta banda, o que leva a concluir que apesar das amostragens terem sido efetuadas longe do centro urbano, o rio ainda recebe aporte de MOD antropogênica, fato confirmado por determinações de coliformes (Lombardi, 2006).

Outras duas amostras de água superficial da Baía apresentaram o mesmo pico, as duas em período chuvoso (uma na quadratura e outra na sizígia), sugerindo que este efluente chegou ao estuário via rio. A influência antropogênica é ainda restrita a pequenos setores afetados pelas descargas de efluentes domésticos das cidades de Paranaguá, Antonina e Guaraqueçaba (Knoppers *et al.*, 1988). Contudo, as atividades do Porto de Paranaguá e arredores representam uma fonte de impacto crescente para o ecossistema da baía.

5.4.13 Ficoeritrina ($\lambda_{em}= 584 \pm 3 \text{ nm}$)

A ficoeritrina é um pigmento fotossintético de natureza proteica encontrado geralmente em algas vermelhas e cianofíceas, e seu comprimento de onda de emissão está localizado próximo a 584 nm (Lombardi e Jardim, 1999).

O pigmento característico desta banda de emissão é produzido somente por espécies que habitam o ambiente marinho. Esta observação foi confirmada neste estudo, uma vez que esse pigmento não esteve presente na MOD alóctone. Neste trabalho a variável que mostra ser determinante na distribuição da ficoeritrina é a maré astronômica, uma vez que durante a maré de quadratura o mesmo se torna mais frequente.

Durante a temporada chuvosa o pigmento esteve presente nas amostras de baixas salinidades apenas nas camadas superficiais. Somente com o aumento da salinidade, a ficoeritrina passou também a ser verificada nas camadas mais profundas.

Quando a quantidade de chuvas e a temperatura da água tendem a diminuir, a ficoeritrina aparece mais frequentemente, sugerindo que o aporte de materiais e nutrientes via alóctone não contribui para a presença de microalgas responsáveis pela produção deste pigmento.

5.4.14 Fluoróforos não classificados

Este estudo constatou a presença de 3 fluoróforos pertencentes às bandas de emissão de 545 ($\pm 3\text{nm}$), 566 ($\pm 3\text{nm}$) e 595 ($\pm 3\text{nm}$). Tais fluoróforos constituem a MOD autóctone da ZMT uma vez que não são detectáveis na MOD alóctone (aporte continental). Esses compostos não foram previamente classificados por outros autores, porém, em uma classificação ampla descrita por Jaffé *et al.* (2003), tem-se que tais fluoróforos integram a classe dos ácidos húmicos e outras substâncias húmicas. Os autores classificaram suas amostras utilizando a mesma técnica de excitação sincronizada, porém com uma diferença entre os comprimentos de onda de emissão e excitação de 65 nm, e sugerem que esses fluoróforos apresentam comprimentos de onda de emissão maior ou igual a 460 nm.

566 ± 3 nm

Este fluoróforo foi observado preferencialmente nas amostras coletadas durante o período chuvoso e nesta fase sua ocorrência demonstra estar associada a situações de alta salinidade.

545 ± 3 nm

Este fluoróforo foi principalmente encontrado durante o período chuvoso. Já na estação seca se tornou menos frequente e mais ligado à maré lunar, sendo mais frequente na MS.

595 ± 3 nm

Este fluoróforo apresentou um comportamento contrário aos fluoróforos emitidos nas bandas de 586 nm (ficoeritrina), pois geralmente quando um fluoróforo é constatado o outro não aparece na mesma amostra. O fluoróforo 586 nm aparece mais na maré de quadratura, enquanto o 595 nm é dominante na maré de sizígia.

6. Conclusões

Este estudo mostrou que é possível caracterizar a MOD na Baía de Paranaguá e distinguir suas diferentes fontes através da espectroscopia de fluorescência. Cada análise sincronizada obtida neste estudo representou uma grande quantidade de informações espectrocópicas pertencentes à composição química das amostras.

Os espectros de excitação sincronizada obtidos neste trabalho sugerem que a MOD na Baía de Paranaguá é uma mistura complexa de material terrestre, substâncias húmicas de origem marinha, e matéria orgânica de origem antrópica. Constatou-se também que esta mistura é altamente susceptível a sazonalidade e que o aporte terrestre pode ser determinante para sustentar a produtividade na baía.

Neste estudo foram detectadas diferentes tendências de ocorrência de fluoróforos nos períodos seco e chuvoso, marés de sizígia e quadratura e, marés enchente e vazante. A contribuição alóctone nas águas da ZMT do estuário de Paranaguá foi presente durante todo o período amostral deste estudo.

Nenhuma banda de emissão mostrou ser exclusiva à MOD terrestre. Todas as bandas pertencentes a esta estiveram relacionadas à composição da MOD estuarina.

A grande diversidade de fluoróforos continentais presentes na água da Baía também foi explicada pelo fato de que rios que se originam perto de manguezais e cidades tendem a ter uma maior concentração de fluoróforos, sendo este o caso dos rios que compõem o estuário de Paranaguá.

Concluiu-se também que qualquer pequena variação no rio pode demonstrar um comportamento não conservativo, ou seja, a contribuição da MOD terrestre sobre o estuário também se altera.

Sabe-se que no estuário de Paranaguá as correntes e a estratificação de salinidade apresentam uma acentuada variação entre os ciclos de sizíguas e de quadraturas. A ressuspensão do material depositado no sedimento é mais pronunciada nas marés de sizígia, enquanto nas marés de quadratura existe o predomínio da advecção. Desta forma em termos de produtividade primária a maré de sizígia atuaria como uma incrementadora do fitoplâncton e a maré de quadratura agiria como facilitadora da atividade comunidade heterotrófica de fundo. A atividade do fitoplâncton é demonstrada pelos resultados de fluorescência, como mostrado através da análise do

espectro de excitação sincronizado. A influência das marés na atividade dos microorganismos foi confirmada pela análise fluorimétrica.

Os resultados deste estudo fornecem informações sobre a MOD estuarina e a contribuição terrestre/dulciaquícola para o Sistema Estuarino de Paranaguá, uma vez que foram investigadas sua composição química, comportamento e interações no ambiente marinho. São escassos os estudos que examinam, de fato, a MOD terrestre como sendo um material que atravessa a plataforma continental e entra no oceano. A maioria dos estudos envolvendo a translocação de MOD de ecossistemas terrestres para marinhos o fazem sob o aspecto das assinaturas características da MOD de cada área. Esta pesquisa distingue-se pelo enfoque dinâmico relativo à contribuição sazonal da MOD e os efeitos de diversas variáveis ambientalmente importantes, tais como marés, salinidade e nutrientes.

7.Considerações Finais

A presença de impacto antrópico (i.e. grande quantidade de proteínas, o branqueamento da MOD, a presença de efluentes domésticos) detectada neste estudo através de sinais de fluorescência da MOD, fornece informações sobre a situação do Estuário de Paranaguá e gera a necessidade de um melhor manejo da área buscando-se reduzir a contaminação orgânica da água, não só estuarina como também de água doce.

A melhoria nas técnicas de manejo mostra-se urgente uma vez que o Complexo Estuarino de Paranaguá possui grande importância ecológica, patenteada pelas 16 unidades de conservação regulamentadas em sua área, além da definição pela UNESCO como Reserva da Biosfera (Decreto de 1995). O CEP possui também relevância econômica, visto que neste estuário localiza-se o principal porto exportador de grãos da América do Sul, o Porto de Paranaguá. Além disso, apresenta privilegiada vocação turística, tanto devido à presença de cidades históricas como Antonina e Morretes, como de balneários recreativos como Pontal do Paraná e Ilha do Mel.

Poucos estudos examinam a MOD terrestre sob um enfoque dinâmico, como um material que sofre transformações ao cruzar a plataforma continental e entrar no oceano; raros são os estudos que avaliam sua contribuição sazonal no estuário. Geralmente os objetivos dos estudos são restritos à obtenção das assinaturas características de cada região, limitando a compreensão do comportamento destes compostos em ambientes aquáticos. Além disso, acredita-se que apenas 25% da MOD de ambientes naturais é bem caracterizada. Esta parcela compreende aminoácidos, ácidos nucleicos, carboidratos, hidrocarbonetos, ácidos graxos e compostos fenólicos (Thomas, 1997; Baker & Spencer, 2004). Os estudos sobre a fluorescência da MOD são desconhecidos quanto aos comprimentos de onda de excitação utilizados para classificar as substâncias húmicas, dificultando as comparações entre os estudos e a obtenção de conclusões com menor grau de incerteza. A necessidade da harmonização das técnicas espectroscópicas e consequentemente a formulação de um protocolo se torna urgente.

As respostas encontradas neste estudo provêm um guia de informações da MOD estuarina neste importante ecossistema, uma vez que se obtiveram informações sobre sua composição química, comportamento e interações no ambiente marinho. Porém

para uma maior compreensão serão necessários estudos prolongados acompanhando a MOD anualmente. Um monitoramento deste tipo, mais longo e detalhado, pode ajudar a compreender melhor o impacto das atividades antrópicas na região e assim contribuir para uma melhor gestão ambiental. Ainda, estudos de longo prazo podem esclarecer o papel deste estuário no seqüestro de carbono atmosférico e sua contribuição na amenização dos efeitos do aquecimento global.

8. Referências Bibliográficas

ABREU, P. C.; HARTMANN C.; ODEBRECHT. C. Nutrient-rich saltwater and its influence on the phytoplankton of the Patos Lagoon estuary, Southern Brazil. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, London, v. 40, p. 219-229, 1989.

AMON R. M.; BENNER R. Photochemical and microbial consumption of dissolved organic carbon and dissolved oxygen in the Amazon River. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Amsterdam, v. 60, p. 1783–1792, 1996a.

_____. Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. **Limnology and Oceanography**, Waco, v. 41, p. 41–51, 1996b.

BAKER, A.; SPENCER, R.G.M. Characterization of dissolved organic matter from source to sea using fluorescence and absorbance spectroscopy. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 33, p. 217– 232, 2004.

BASSFELD, J. **Toxicidade aguda para organismos-teste *Selenastrum capricornutum* Printz (Alga – Chlorophyceae) e *Daphnia magna* Straus (Crustácea: Cladocera) de cinco agrotóxicos frequentemente utilizados na Bacia Hidrográfica do Rio Nhundiaquara – Morretes – PR.** 97 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

BENNER, R. Cycling of dissolved organic matter in the ocean. In: HESSEN, D.O., TRANVIK, L.J. (Ed.). **Aquatic Humic Substances: Ecology and Biogeochemistry.** Ecological Studies. Heidelberg, v. 133, e. 12, p 317–331, 1998.

BIGARELLA, J.J. A Serra do Mar e a porção oriental do Paraná, um problema de segurança ambiental e nacional. In: BIGARELLA, J.J. *et.al.* (Ed.). **Secretaria Do Estado e do Planejamento do Paraná**, Curitiba: Imprensa Oficial do Estado, 1978. p. 240-248.

BOEHME, J.; WELLS, M. Fluorescence variability of marine and terrestrial colloids: Examining size fractions of chromophoric dissolved organic matter in the Damariscotta River estuary. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 101, p. 95–103, 2006.

BOYD, T.J., OSBURN, C.L. Changes in CDOM fluorescence from allochthonous and autochthonous sources during tidal mixing and bacterial degradation in two coastal estuaries. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 89, p. 189–210, 2004.

BOYNTON, W. R; KEMP, W.M; KEEFE, C.M. A Comparative Analysis Of Nutrients And Other Factors Influencing Estuarine Phytoplankton Production. In: KENNEDY, V.S. (Ed.). **Estuarine Comparisons**. New York: Academic Press, 1982. p. 69-90.

BRICAUD, A., MOREL, A.; PRIEUR, L. Absorption by dissolved organic matter of the sea (yellow substance) in the UV and visible domains. **Limnology and Oceanography**, Waco, v. 26, p. 43–53, 1981.

CABANISS E. S.; SHUMAN M. S. Synchronous Fluorescence Spectra of Natural Waters: Tracing Sources of Dissolved Organic Matter. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 21, p. 37-50, 1987.

CALLAHAN, J. *et al.* Distribution of dissolved organic matter in the Pearl River Estuary, China. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 89, p. 211- 224, 2004.

CAMARGO, R.; HARARI, J. Modelagem numérica de ressacas na plataforma sudeste do Brasil a partir de cartas sinópticas de pressão atmosférica na superfície. **Boletim do Instituto oceanográfico da USP**, São Paulo, v. 42, e. 1, p. 19–34, 1994.

CANDLER, R.; ZECH, W.; ALT, H. G. Characterization of water-soluble organic substances from a type dystrochrept under spruce GPC, IR, ¹H NMR, and ¹³C NMR spectroscopy. **Soil Science**, Philadelphia, v. 146, p. 445-452, 1988.

CANUEL, E.A. Relations between river flow, primary production and fatty acid composition of particulate organic matter in San Francisco and Chesapeake Bays: a multivariate approach. **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 32, p. 563-583, 2001.

CARMOUZE, J.P. **O Metabolismo dos ecossistemas aquáticos**: fundamentos teóricos. Métodos de Estudo e Análises Químicas. São Paulo: Edgard Blucher, 1994.

CHEN, J. *et al.* Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 50, p. 639-647, 2003.

CHIN, Y.P. *et al.* Abundance and properties of dissolved organic-matter in pore waters of a fresh-water wetland. **Limnology and Oceanography**, Waco, v. 43, e. 6, p. 1287-1296, 1998.

CLARK, C.D. *et al.* A time-resolved fluorescence study of dissolved organic matter in a riverine to marine transition zone. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 78, p. 121– 135, 2002.

CLOERN, J.E.; CANUEL, E.A.; HARRIS, D. Stable carbon and nitrogen isotope composition of aquatic and terrestrial plants of the San Francisco Bay estuarine system. **Limnology and Oceanography**, Waco, v. 47, p. 713–729, 2002.

COBLE, P.G. Characterisation of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission spectroscopy. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 51, p. 325-346, 1996.

COBLE, P.G.; DEL-CASTILLO, C.E.; AVRIL, B. Distribution and optical properties of CDOM in the Arabian Sea during the 1995 summer monsoon. **Deep-Sea Research (Part II, Topical Studies in Oceanography)**, Amsterdam, v. 45, p. 2195– 2223, 1998.

DAY JR., J.W. **Estuarine Ecology**. New York: Wiley & Sons, Inc., 1989.

DEGENS, E.T., KEMPE, S., RICHEY, J.E. **Biogeochemistry of Major World Rivers**. England: Wiley & Sons, Inc., 1991.

DEL-CASTILLO, C.E. *et al.* Analysis of the optical properties of the Orinoco River plume by absorption and fluorescence spectroscopy. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 66, p. 35–51, 1999.

DEL CASTILLO, C. E. *et al.* On the dispersal of riverine colored dissolved organicmatter over the West Florida Shelf. **Limnology and Oceanography**, Waco, v. 45, e. 6, p. 1425 -1432, 2000.

DE SOUZA SIERRA, M.M. *et al.* Fluorescence spectroscopy of coastal and marine waters. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 47, p. 127– 144, 1994.

DE SOUZA SIERRA, M.M.; DONARD, O.F.X.; LAMOTTE, M. Spectral identification and behavior of dissolved organic fluorescent materials during estuarine mixing processes. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 58, p. 51–58, 1997.

DETERMANN, S. *et al.* Fluorescence matter in the eastern Atlantic Ocean: part 1. Method of measurement and near-surface distribution. **Deep-Sea Research**, Amsterdam, v. 41, p. 659-675, 1994.

DETERMANN, S. *et al.* Ultraviolet Fluorescence excitation and emission spectroscopy of Ultraviolet fluorescence excitation and emission spectroscopy of marine algae and bacteria. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 62, p. 137–156, 1998.

DIAMOND, S.A. *et al.* Effect of irradiance spectra on the photoinduced toxicity of three polycyclic aromatic hydrocarbons. **Environmental Toxicology Chemistry**, Pensacola, v. 19, p. 1389– 1396, 2000.

DITTMAR, T.; FITZNAR, H.P.; KATTNER, G. Origin and biogeochemical cycling of organic nitrogen in the eastern Arctic Ocean as evident from d- and l-amino acids. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Amsterdam, v. 65, e. 22, p. 4103– 4114, 2001.

DORSCH, J.E.; BIDDLEMAN, T.F. Natural organics as fluorescent tracers of river – sea mixing. **Estuarine Coastal Shelf Science**, London, v. 15, p. 701–707, 1982.

DYER, K.R. **Estuarine Hydrography And Sedimentation**. Cambridge: University Press, 1979.

FERRARI, G.M.; MINGAZZINI, M. Synchronous fluorescence spectra of dissolved organic matter (DOM) of algal origin in marine coastal waters. **Marine Ecology Progress Series**, Oldendorf, v. 125, p. 305– 315, 1995.

FREEMAN, C. *et al.* Export of organic carbon from peat soils. **Nature**, New York, p. 412:785, 2001.

GALAPATE, R.P. *et al.* Detection of domestic wastes in Kurose River using synchronous fluorescence spectroscopy. **Water Research**, Amsterdam, v. 32, p. 2232–2239, 1998.

GHOSH, K.; SCHNITZER, M. Fluorescence excitation spectra and viscosity behavior of a fulvic acid and its copper and iron complexes. In: LOMBARDI, A.T. **Caracterização e complexação da matéria orgânica natural**. 133 f. Tese (Doutorado em Química Ambiental) - Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.

HEDGES, J.I.; KEIL, R.G. Sedimentary organic matter preservation: an assessment and speculative synthesis. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 49, p. 81–115, 1995.

HERMAN, P.M.J.; HEIP, C.H.R. Biogeochemistry of the maximum turbidity zone of estuaries (MATURE): some conclusions. **Journal of Marine Systems**, Amsterdam, v. 22, p. 89-104, 1999.

HAYASE, K.; SHINOZUKA, N. Vertical distribution of fluorescent organic matter along with AOU and nutrients in the equatorial Pacific. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 48, p. 283– 290, 1995.

HERNES, P.J. *et al.* Tannin diagenesis in mangrove leaves from a tropical estuary: a novel molecular approach. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Amsterdam, v. 65, p. 3109– 3122, 2001.

JAFFE', R. *et al.* Origin and transport of sedimentary organic matter in two sub-tropical estuaries: a comparative, biomarker-based study. **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 32, p. 507–526, 2001.

KELTON,N.; MOLOT, L.A.; DILLON, P.J. Spectrofluorometric properties of dissolved organic matter from Central and Southern Ontario streams and the influence of iron and irradiation. **Water Research**, Amsterdam, v. 41, p. 638 – 646, 2007.

KLINKHAMMER, G. P. *et al.* Behavior of terrestrial dissolved organic matter at the continent-ocean boundary from high-resolution distributions. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Amsterdam, v. 64, e. 16, p. 2765-2774, 2000.

KOWALCZUK, P. *et al.* Characterization of CDOM in an organic-rich river and surrounding coastal ocean in the South Atlantic Bight. **Aquatic Science**, Amsterdam, v. 65, p. 384-401, 2003.

KNOPPERS, B.A.; BRANDINI, F.P. ; THAMM, C.A. Ecological Studies In The Bay Of Paranagua. Some Physical And Chemical Characteristics. **Nerítica**, Pontal do Sul, v. 2, e. 1, p. 1-36, 1987.

KNOPPERS, B.A.; MOREIRA, P.F.. Matéria em suspensão e sucessão do fitoplâncton na lagoa da Guarapina, R.J. **Acta Limnologica Brasiliensia**, Campinas, v. 2, e. 2, p. 291-317, 1988.

LANA, P.C. Macrofauna benthica de fundos sublitorais não consolidados da Baía de Paranaguá (Paraná). **Nerítica**, Pontal do Sul, v. 1, e. 3, p. 79-89, 1986.

LANA, P.C. *et al.* The subtropical estuarine complex of Paranaguá Bay, Brazil. In: SEELIGER, U.; KJERFVE, B. (Ed.). **Coastal marine ecosystems of Latin America**. Ecological Studies. Berlin, v. 144, p. 131–145, 2001.

LEITHOLD, E.L.; BLAIR, N.E. Watershed control on the carbon loading of marine sedimentary particles. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Amsterdam v. 65, p. 2231-2240, 2001.

LOMBARDI, A.T. **Caracterização e complexação da matéria orgânica natural**. 133 f. Tese (Doutorado em Química Ambiental) - Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.

LOMBARDI, A.T., JARDIM, W.F. Fluorescence spectroscopy of high performance liquid chromatography fractionated marine and terrestrial organic materials. **Water Research**, Amsterdam, v. 33, p. 512–520, 1999.

LOMBARDI, A.T. **Efeito da mod nas interações metais – microalgas: uma investigação na bacia do rio Nhundiaquara, Paraná**. Pontal do Sul: Centro de Estudos do Mar, 2006. Relatório científico, CNPq.

LEBOEUF, E.J.; WEBER, W.J. Macromolecular characteristics of natural organic matter. 1. Insights from glass transition and enthalpic relaxation behavior. **Environmental Science Technology**, Washington, v. 34, p. 3623–3631, 2000a.

_____. (2000b). Macromolecular characteristics of natural organic matter. 2. Sorption and desorption behavior. **Environmental Science Technology**, Washington, v. 34, p. 3632–3640, 2000b.

LU, X.Q.; JAFFE´, R. Interaction between Hg(II) and natural dissolved organic matter: a fluorescence spectroscopy based study. **Water Research**, Amsterdam, v. 35, p. 1793-1803, 2001.

LU, X.Q., CHILDERS, D.L., HANNA, J.V., MAIE, N., JAFFE´, R. (2003). Molecular characterization of dissolved organic matter in freshwater wetlands of the Florida Everglades. **Water Research**, Amsterdam, v. 37, p. 2599– 2606.

MALLIN, M. A. *et al.* North and South Carolina Coast. **Marine Pollution Bulletin**, Amsterdam, v. 41, e. 1–6, p. 56–75, 2000.

MANTOVANELLI, A. **Caracterização da dinâmica hídrica e do material particulado em suspensão na Baía de Paranaguá e em sua bacia de drenagem.** 146 f. Dissertação (Mestrado Em Geologia Ambiental) - Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.

MARONE, E.; JAMIYANA, D. Tidal characteristics and a variable boundary numerical model for the M2 tide for the estuarine complex of the Bay of Paranaguá, Pr, Brazil. **Nerítica**, Pontal do Sul, v. 11, e. 1-2, p. 95-107, 1997.

MARONE, E.; CAMARGO, R.. Marés meteorológicas no litoral do estado do Paraná: O evento de 18 de agosto de 1993. **Nerítica**, Pontal do Sul, v. 8, e. 1-2, p. 73-85, 1994.

MAYER, L.M.; SCHICK, L.L.; LODER, T.C. Dissolved protein fluorescence in two main estuaries. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 64, p. 171-179. 1999.

MC CALLISTER, S.L. *et al.* Assessing the sources and ages of organic matter supporting estuarine bacterial production: a novel multiple isotope (d13C, d15N, D14C) approach. **Limnology and Oceanography**, Waco, v. 49, p. 1687–1702, 2004.

MCKNIGHT, D.M. *et al.* Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. **Limnology and Oceanography**, Waco, v. 46, p. 38–48, 2001.

MCKNIGHT, D.M.; AIKEN, G.R.. Sources and age of aquatic humus. In: HESSEN, D.O., TRANVIK, L.J. (Ed.). **Aquatic Humic Substances: Ecology and Biogeochemistry.** Ecological Studies. Berlin: Springer-Verlag, 1998. p. 9-39.

MIANO, T.M.; SPOSITO, G.; MARTIN, J.P. Fluorescence spectroscopy of humic substances. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 52, p. 1016–1019, 1988.

MIRANDA, L.B. **Cinemática e dinâmica de estuários**. São Paulo: Instituto Oceanográfico da Usp, 1996.

MISIC, C. *et al.* Dissolved organic matter characterisation and temporal trends in Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, London, v. 70, p. 405–414, 2006.

MOPPER, K. *et al.* Photochemical degradation of dissolved organic carbon and its impact on the oceanic carbon cycle. **Nature**, New York, v. 353, p. 60–62, 1991.

MOPPER, K.; SCHULTZ, C.A. Fluorescence as a possible tool for studying the nature and water column distribution of DOC components. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 41, p. 238–299, 1993.

MORAN M. A. *et al.* Distribution of terrestrially derived dissolved organic matter on the southeastern U. S. continental shelf. **Limnology and Oceanography**, Waco, v. 36, e. 11, p. 34–1149, 1991.

MOUNIER, S. *et al.* Three dimensional fluorescence of the dissolved organic carbon in the Amazon River. **Water Research**, Amsterdam, v. 33, p. 1523–1533, 1999.

MUELLER, H.; AYUKAI, T. Concentration and molecular weight distribution of dissolved organic carbon in a mangrove creek in the Hinchinbrook area, Australia. **Mangroves Salt Marshes**, Heidelberg, v. 2, p. 231–235, 1998.

MUYLAERT, K.; SABBE, K. Spring phytoplankton assemblages the Elbe_Germany., the Schelde Belgium, The Netherlands and the Gironde France. **Journal Marine Systems**, Amsterdam, v. 22, p. 133–149, 1999.

NELSON, N.B.; SIEGEL, D.A.; MICHAELS, A.F. Seasonal dynamics of colored dissolved organic material in the Sargasso Sea. **Deep-Sea Research**, Amsterdam, v. 45, p. 931–957, 1998.

NICHOLS, M.M. Effects Of Fine Sediment Resuspension In Estuaries. In: A.J. Mehta (Ed.). **Lecture Notes On Coastal And Estuarine Studies**. Estuarine Cohesive Sediment Dynamics. New York :Spring-Verlag, 1986. v. 14, p. 5-42.

NIEKE, B. *et al.* Light absorption and fluorescence properties of chromophoric dissolved organic matter (CDOM), in the St. Lawrence Estuary (Case 2 waters). **Continental Shelf Research**, Amsterdam, v. 17, e. 3, p. 235–252, 1997.

NOERNBERG, M. A.. **Processos Morfodinâmicos No Complexo Estuarino De Paranaguá: Um Estudo Utilizando Dados Landsat-Tm e Medições In Situ**. 118 F. Tese (Doutorado em Geologia Ambiental)- Departamento de Geologia, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

OPSAHL, S.; BENNER, R. Distribution and cycling of terrigenous dissolved organic matter in the ocean. **Nature**, New York , v. 386, p. 480–482, 1997.

PARLANTI, E.*et al.* Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 31, p. 1765– 1781, 2000.

PERSSON, T.; WEDBORG, M. Multivariate evaluation of the fluorescence of aquatic organic matter. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 434, p. 179– 192, 2001.

PEURAVUORI, J.; KOIVIKKO, R.; PHLAJA, K. Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy. **Water Research**, Amsterdam, v. 36, p 4552- 4562, 2002.

PRAHL, F.G. *et al.* Terrestrial organic carbon contributions to sediments on the Washington margin. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Amsterdam, v. 58, p. 3035-3048, 1994.

RAYMOND, P.A.; BAUER, J.E. Bacterial consumption of DOC during transport through a temperate estuary. **Aquatic Microbial Ecology**, Brussels, v. 22, p. 1-12, 2000.

_____. Use of ^{14}C and ^{13}C natural abundances for evaluating riverine, estuarine, and coastal DOC and POC sources and cycling: a review and synthesis. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 32, p. 469– 485, 2001.

REBELLO, J.; BRANDINI, F. P. Variação temporal de parâmetros hidrográficos e material particulado em suspensão em dois pontos fixos da Baía de Paranaguá, Paraná (junho/87 - fevereiro/ 88). **Neritica**, Pontal do Sul, v. 5, p. 95-111, 1990.

ROCHELLE-NEWALL, E.J.; FISHER, T.R. Chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in Chesapeake Bay. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 77, p. 23– 41. 2002a.

_____. Production of chromophoric dissolved organic matter fluorescence in marine and estuarine environments: an investigation into the role of phytoplankton. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 77, p. 7 – 21, 2002b.

RYAN D. K. E WEBER J. H. Fluorescence Quenching Titration for Determination of Complexing Capacities and Stability Constants of Fulvic Acid. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 54, p. 986-990. 1982a.

_____. Copper(II) Complexing Capacities of Natural Waters by Fluorescence Quenching. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 16, p. 866-871, 1982b.

SÁ, F. **Distribuição e fracionamento de contaminantes nos sedimentos superficiais e atividades de dragagem no complexo estuarino da Baía de Paranaguá (Pr)**. 106 f. Dissertação (Mestrado em Geologia ambiental) - Departamento de Geologia, Setor de Ciências da Terra , Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

SERITTI, A. *et al.* Production of hydrophobic fluorescent organic matter by the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 28, p. 117-129, 1994.

STALLARD, R.F. Terrestrial sedimentation and the carbon cycle: coupling weathering and erosion to carbon burial. **Global Biogeochemical Cycles**, Oakland, v. 12, p. 231-257, 1998.

STRICKLAND J. L. H.; PARSONS T. R. A Practical Handbook Of Seawater Analysis. **Fisheries Research Board of Canada**, Ontario, p. 167, 1972.

STEDMON, C.A.; MARKAGER, S.; BRO, R. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 82, p. 239–254, 2003.

TABORDA, E. Vazamento na Serra do Mar é 40 vezes maior que o anunciado. **FOLHA DO PARANÁ**, Curitiba, 21 fev. 2001.

THOMAS, J.D. The role of dissolved organic matter, particularly free amino acids and humic substances, in freshwater ecosystems. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 38, p.1-36, 1997.

TRANVIK, L.J. Microbial transformations of labile dissolved organic matter into humic-like matter in seawater. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 12, p. 177- 183, 1993.

TRANVIK, L. J.; BERTILSSON, S. Contrasting effects of solar UV radiation on dissolved organic sources for bacterial growth. **Ecology Letters**, Oxford, v. 4, p. 458-463, 2001.

VENTRY L. S.; RYAN D. K.; GILBERT T. R. A Rapid Fluorescence Quenching Method for the Determination of Equilibrium Parameters for Copper(II) Complexation by Humic Materials. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 44, p. 201- 214, 1991.

VODACEK, A. *et al.* Seasonal variation of CDOM and DOC in the Middle Atlantic Bight: terrestrial inputs and photooxidation. **Limnology and Oceanography**, Waco, v. 42, e. 4, p. 674– 686, 1997.

XIAOYING, Y. Humic acids from endemic arsenicosis areas in inner Mongolia and from the blackfoot-disease areas in Taiwan: a comparative study. **Environmental Geochemistry and Health**, New Jersey, v. 23, p. 27-42, 2001.

WATTS, C.D. *et al.* Long term variations in water color from Yorkshire catchments. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 278, p. 57-72, 2001.

WILLEY, J. ; ATKINSON, L. Natural fluorescence as a tracer for distinguishing between piedmont and coastal plain river water in the nearshore waters of Georgia and North Carolina. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, London, v. 14, p. 49–59, 1982.

WILLIAMS P. M.; DRUFFEL E. R. M. Radiocarbon in dissolved organic matter in the central North Pacific Ocean. **Nature**, New York, v. 330, p. 246-248, 1987.

WORRELL, F.; BURT, T.; SHEDDEN, R. Long term records of riverine dissolved organic matter. **Biogeochemistry**, Heidelberg, v. 64, p. 165– 178, 2003.

ZEPP, R.G. Interactions of marine biogeochemical cycles and the photodegradation of dissolved organic carbon and dissolved organic nitrogen. In: Gianguzza, A., *et al.* (Ed.). **Marine Chemistry**. Netherlands: Kluwer Academic Publishing, 1997. p. 329– 351.

ZIEGLER, S.; BENNER, R. Effects of solar radiation on dissolved organic matter cycling in a subtropical seagrass meadow. **Limnology and Oceanography**, Waco, v. 45, p. 257– 266, 2000.

9. Anexos

Tabela 2. *Factor scores* extraídos para cada amostra em relação ao total de amostras sobre as 12 variáveis da matriz original dos dados. A variável λ (nm) corresponde aos valores de emissão da 1ª classe de fluoróforos (λ_{Ex} 350 nm). Valores positivos apresentados em negrito.

Amostra	Fator 1	Fator 2
1f quadratura verão	-0,037	-0,083
1s quadratura verão	-0,13	-0,617
2f quadratura verão	0,09	-0,486
2s quadratura verão	0,038	-0,152
3f quadratura verão	-0,135	-0,314
3s quadratura verão	-0,146	-0,287
4f quadratura verão	-0,252	-0,301
4s quadratura verão	-0,266	-0,259
5f quadratura verão	-0,067	-0,188
5s quadratura verão	0,022	-0,218
6f quadratura verão	-0,057	-0,227
6s quadratura verão	-0,249	-0,211
1f quadratura inverno	0,254	-0,045
1s quadratura inverno	0,12	0,231
2f quadratura inverno	0,3	0,006
2s quadratura inverno	0,166	0,149
3f quadratura inverno	0,181	-0,003
3s quadratura inverno	0,249	0,171
4f quadratura inverno	0,248	0,004
4s quadratura inverno	0,17	0,13
5f quadratura inverno	0,293	0,03
5s quadratura inverno	0,156	0,19
6f quadratura inverno	0,277	-0,03
6s quadratura inverno	0,219	0,125
1f sizígia verão	-0,459	0,181
1s sizígia verão	-0,421	0,053
2f sizígia verão	-0,421	0,088
2s sizígia verão	-0,473	0,113
3f sizígia verão	-0,41	0,168
3s sizígia verão	-0,616	0,344
4f sizígia verão	-0,475	0,099
4s sizígia verão	-0,471	0,083
5f sizígia verão	-0,582	0,214
5s sizígia verão	-0,404	0,119
6f sizígia verão	-0,404	0,021
6s sizígia verão	-0,343	0,055
1f sizígia inverno	0,45	0,104
1s sizígia inverno	0,324	0,132
2f sizígia inverno	0,309	0,106
2s sizígia inverno	0,21	0,027
3f sizígia inverno	0,143	0,131
3s sizígia inverno	0,215	0,059
4f sizígia inverno	0,591	0,067
4s sizígia inverno	0,46	-0,013
5f sizígia inverno	0,405	0,063
5s sizígia inverno	0,25	0,071
6f sizígia inverno	0,436	0,002
6s sizígia inverno	0,246	0,098

Tabela 4. *Factor scores* extraídos para cada amostra em relação ao total de amostras sobre as 12 variáveis da matriz original dos dados. A variável λ (nm) corresponde aos valores de emissão da 2ª classe de fluoróforos (λ_{Ex} 450nm). Valores positivos apresentados em negrito.

Amostra	Fator 1	Fator 2
1f quadratura verão	-0,037	-0,097
1s quadratura verão	-0,152	-0,577
2f quadratura verão	0,041	-0,35
2s quadratura verão	0,058	-0,152
3f quadratura verão	-0,149	-0,304
3s quadratura verão	-0,152	-0,327
4f quadratura verão	-0,258	-0,321
4s quadratura verão	-0,277	-0,239
5f quadratura verão	-0,066	-0,191
5s quadratura verão	-0,055	-0,17
6f quadratura verão	-0,094	-0,245
6s quadratura verão	-0,246	-0,249
1f quadratura inverno	0,197	-0,084
1s quadratura inverno	0,203	0,256
2f quadratura inverno	0,273	-0,058
2s quadratura inverno	0,174	0,145
3f quadratura inverno	0,123	-0,034
3s quadratura inverno	0,239	0,156
4f quadratura inverno	0,24	0,05
4s quadratura inverno	0,168	0,149
5f quadratura inverno	0,236	-0,007
5s quadratura inverno	0,234	0,157
6f quadratura inverno	0,167	-0,019
6s quadratura inverno	0,248	0,109
1f sizígia verão	-0,449	0,147
1s sizígia verão	-0,402	0,066
2f sizígia verão	-0,412	0,085
2s sizígia verão	-0,441	0,139
3f sizígia verão	-0,384	0,138
3s sizígia verão	-0,623	0,475
4f sizígia verão	-0,433	0,081
4s sizígia verão	-0,44	0,11
5f sizígia verão	-0,472	0,192
5s sizígia verão	-0,404	0,135
6f sizígia verão	-0,37	0,046
6s sizígia verão	-0,318	0,057
1f sizígia inverno	0,413	0,041
1s sizígia inverno	0,354	0,124
2f sizígia inverno	0,326	0,084
2s sizígia inverno	0,19	0,053
3f sizígia inverno	0,185	0,104
3s sizígia inverno	0,271	0,066
4f sizígia inverno	0,581	0,024
4s sizígia inverno	0,391	0,027
5f sizígia inverno	0,426	0,015
5s sizígia inverno	0,205	0,099
6f sizígia inverno	0,424	-0,01
6s sizígia inverno	0,268	0,104

Tabela 6. Composição da FMOD em cada amostra (a marca X indica a presença do fluoróforo específico).

	Material Recém formado	Proteínas	Compostos de 3 ou 4 anéis aromáticos	Naftaleno e seus conjugados	Ácido Fúlvico Terrestre	Composto de 5 anéis aromáticos	Ácidos húmicos e similares	SH marinha associada ao fitoplâncton	Compostos de 7 anéis aromáticos	Material recém formado	Ácido Fúlvico (solo)	Efluente doméstico	Ficoeritrina	Não-classificado	Não-classificado	Não-classificado
Rio	X	X		X			X		X	X		X				
1f Quadra. verão		X		X		X	X		X	X			X	X	X	
1sQuadra. verão		X	X	X				X					X	X	X	
2f Quadra. verão		X			X	X				X	X		X	X	X	
2sQuadra. verão		X		X		X		X	X	X				X		X
3fQuadra. verão		X	X	X			X		X							X
3sQuadra. verão				X			X	X	X	X				X		X
4fQuadra. verão	X	X												X		
4sQuadra. verão		X	X		X		X	X		X				X		
5fQuadra. verão		X	X					X	X	X				X		
5sQuadra. verão	X	X	X					X		X			X		X	
6fQuadra. verão		X	X				X			X			X		X	
6sQuadra. verão		X	X							X		X				X
1f Quadra. inverno						X	X		X	X						X
1sQuadra. inverno	X	X			X	X		X		X			X		X	
2f Quadra. inverno	X	X					X			X			X		X	
2sQuadra. inverno		X				X	X			X				X		X
3fQuadra. inverno							X		X	X						X
3sQuadra. inverno		X				X	X	X	X	X						X
4fQuadra. inverno	X	X			X		X		X				X		X	
4sQuadra. inverno	X	X	X				X		X							X
5fQuadra. inverno			X				X	X		X			X		X	
5sQuadra. inverno						X	X	X	X	X			X		X	
6fQuadra. inverno		X	X			X		X		X			X	X	X	
6sQuadra. inverno		X	X				X						X		X	
1f Sizi. verão		X				X				X				X		
1s Sizi. verão		X			X			X	X	X				X		
2f Sizi. verão		X		X		X	X	X	X	X	X			X		
2s Sizi. verão		X		X		X	X	X	X	X						
3f Sizi. verão		X	X	X			X	X	X	X				X		

Tabela 6. Continuação.

	Material Recém formado	Proteínas	Compostos de 3 ou 4 anéis aromáticos	Naftaleno e seus conjugado	Ácido Fúlvico terrestre	Composto de 5 anéis aromáticos	Ácidos húmicos e similares	SH marinha associada ao fitoplâncton	Compostos de 7 anéis aromáticos	Material recém formado	Ácido Fúlvico (solo)	Efluente doméstico	Ficoeritrina	Não- classificado	Não- classificado	Não- classificado
3sSizi. verão		X		X			X	X	X	X			X	X	X	X
4f Sizi. verão		X		X			X	X	X	X				X		X
4s Sizi. verão		X		X		X	X	X	X	X				X		
5f Sizi. verão		X		X			X	X	X	X				X		X
5s Sizi. verão		X		X		X	X		X	X			X	X	X	
6s Sizi. verão		X				X	X		X	X				X		
6s Sizi. verão		X				X	X		X	X		X	X		X	X
1f Sizi. inverno	X	X		X			X	X	X	X						X
1sSizi. inverno	X	X						X						X		X
2f Sizi. inverno	X	X				X		X								
2s Sizi. inverno		X		X	X		X	X	X		X		X		X	
3f Sizi. inverno		X		X	X		X			X				X		X
3s Sizi. inverno	X	X			X		X	X	X							X
4f Sizi. inverno	X	X			X		X	X	X					X		X
4s Sizi. inverno		X					X	X						X		
5f Sizi. inverno	X	X			X					X						X
5s Sizi. inverno	X	X					X	X	X	X				X		X
6f Sizi. inverno	X	X			X		X	X	X	X			X		X	
6s Sizi. inverno	X	X			X		X	X	X					X		X

Tabela 7. Origem e ocorrência dos fluoróforos na Baía de Paranaguá.

Fluoróforo	Origem da FMOD	Estação	Maré	Distribuição na coluna d'água
Material recém-formado I	Manguezais, marismas e perifíton	Mais frequente durante período seco	Sizígia	Preferencialmente em águas de fundo
Proteínas	Atividade microbiana, fitoplanctônica e zooplanctônica; manguezais, marismas, perifíton e origem terrestre; relacionada à atividade antrópica	Seca e chuvosa	Sizígia e quadratura	Superfície e fundo
Compostos de 3 ou 4 anéis aromáticos	Marinha	Mais frequente durante período chuvoso	Quadratura	Superfície e fundo
Naftaleno e seus conjugados	Antrópica	Seca (exclusivamente em marés de sizígia) e chuvosa (em marés de sizígia e quadratura)	Sizígia e quadratura	Superfície (em baixas salinidades) e fundo (altas salinidades)
Ácido fúlvico terrestre	Derivado de vegetais e resíduos com altas concentrações de orgânicos, fenólicos e ligno-derivados	Seca e chuvosa	Sizígia e quadratura	Superfície (exclusivamente durante período chuvoso) e fundo (período seco e chuvoso)
Composto de 5 anéis aromáticos	Marinha	Seca e chuvosa	Mais frequente na sizígia	Superfície e fundo

Tabela 7.Continuação.

Fluoróforo	Origem da FMOD	Estação	Maré	Distribuição na coluna d'água
SH marinha associada ao fitoplâncton	Marinha, associada à produtividade biológica recente	Seca e chuvosa	Sizígia e quadratura	Superfície e fundo
Ácidos húmicos e similares	Marinha e terrestre	Seca e chuvosa	Sizígia e quadratura	Superfície e fundo
Compostos aromáticos de 7 anéis benzênicos	Terrestre	Chuvosa	Sizígia	Superfície e fundo
Material recém-formado II	Derivados do fitoplâncton	Chuvosa	Quadratura	Preferencialmente em águas de fundo
Ácido fúlvico (solo)	Lixiviação, erosão	Chuvosa	Sizígia e quadratura	Superfície e fundo
Efluente doméstico	Antrópica	Chuvosa	Sizígia e quadratura	Preferencialmente em águas superficiais
Ficoeritrina	Algas vermelhas e cianofíceas	Preferencialmente em períodos secos	Quadratura	Superfície e fundo
Não classificados	Desconhecida	Chuvosa	Sizígia	Superfície e fundo